

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U. N° 75

Influence de l'Acide qui salifie l'Emétine sur la toxicité des sels de cet alcaloïde vis-à-vis de quelques Protistes, *in vitro*

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME DE

Docteur de l'Université de Paris (PHARMACIE)

présentée et soutenue le

1943

PAR

Joseph-André JEAN-BAPTISTE

JURY { MM. RÉGNIER, *Président.*
JANOT, *Professeur.*
VALETTE, *Maitre de Conférences.*

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1943

FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

Nom du Candidat : **JEAN-BAPTISTE.**

Prénoms : **Joseph-André.**

Date de la soutenance :

Numéro d'ordre : 75

1

JEAN-BAPTISTE (Joseph-André). — Influence de l'acide qui salifie l'émétine sur la toxicité des sels de cet alcaloïde vis-à-vis de quelques protistes, *in vitro*. — Paris, Jouve et C^{ie}, édit., 1943, in-8°, 124 p.

Th. Pharm. Doct. Univ. Paris, 1943.
Série U. N° 75.

2

JEAN-BAPTISTE (Joseph-André). — Influence de l'acide qui salifie l'émétine sur la toxicité des sels de cet alcaloïde vis-à-vis de quelques protistes, *in vitro*. — Paris, Jouve et C^{ie}, édit., 1943, in-8°, 124 p.

Th. Pharm. Doct. Univ. Paris, 1943.
Série U. N° 75.

3

JEAN-BAPTISTE (Joseph-André). — Influence de l'acide qui salifie l'émétine sur la toxicité des sels de cet alcaloïde vis-à-vis de quelques protistes, *in vitro*. — Paris, Jouve et C^{ie}, édit., 1943, in-8°, 124 p.

Th. Pharm. Doct. Univ. Paris, 1943.
Série U. N° 75.

4

JEAN-BAPTISTE (Joseph-André). — Influence de l'acide qui salifie l'émétine sur la toxicité des sels de cet alcaloïde vis-à-vis de quelques protistes, *in vitro*. — Paris, Jouve et C^{ie}, édit., 1943, in-8°, 124 p.

Th. Pharm. Doct. Univ. Paris, 1943.
Série U. N° 75.

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U. N° 75

Influence de l'Acide qui salifie l'Éméline
sur la toxicité des sels de cet alcaloïde vis-à-vis
de quelques Protistes, *in vitro*

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME DE

Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le 1943

PAR

Joseph-André JEAN-BAPTISTE

JURY { MM. RÉGNIER, *Président.*
JANOT, *Professeur.*
VALETTE, *Maître de Conférences.*

PARIS

JOUBE & C^{te}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1943

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION

MM. DAMIENS, *Doyen*, O. ✱, **UI**.
H. HERISSEY, *Assesseur*, O. ✱, **UI**.
H. J. LIONNET, *Secrétaire*, **UI**.

PROFESSEURS

MM. DAMIENS, O. ✱, UI .	Chimie minérale.
HERISSEY, O. ✱, UI .	Chimie biologique.
SOMMELET, ✱, UI .	Chimie organique.
FABRE, ✱, UI .	Toxicologie.
LAUNOY, O. ✱, UI .	Zoologie.
DELABY, ✱, UI .	Pharmacie chimique.
PICON, ✱, UI .	Physique.
MASCRE, ✱, UI .	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale.
BACH, ✱, UI .	Botanique.
FLEURY, UI .	Chimie analytique.
RÉGNIER, UI .	Microbiologie.
JANOT, QA .	Pharmacie galénique.

Doyens honoraires : MM. RADAIS, O. ✱, **UI**. — GUÉRIN, O. ✱, **UI**.

Professeurs honoraires :

MM. DELÉPINE, O. ✱, **UI** et LEBEAU, O. ✱, **UI**, Membres de l'Institut.
PERROT, C. ✱, **UI**, COUTIÈRE, O. ✱, **UI**, BOUGAULT, O. ✱, **UI**,
LUTZ, ✱, **UI**. GORIS, O. ✱, **UI**.

MAITRES DE CONFÉRENCES

BEDEL, ✱, UI .	Minéralogie, Législation et Déontologie pharmaceutiques.
CHARONNAT, UI .	Hydrologie et Hygiène.
VALETTE, QA .	Cryptogamie et Technique microbiologique. Pharmacodynamie.
FONTAINE.	Histoire naturelle.
GUILLOT.	Sciences physiques et chimiques.
PARIS.	Botanique et matière médicale.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DOMANGE, QA , trav. pratiques de 1 ^{re} année.	Chimie générale et pharmaceutique.
GAUTIER, QA , trav. pratiqu. de 2 ^e et 3 ^e année.	Chimie analytique.
N...	Micrographie.
CORRIEZ, QA .	Physique.
DAVID, UI .	Microbiologie.
COURTOIS.	Chimie biologique, Bromatologie et Pharmacie chimique.

Bibliothécaire en Chef : M. GARNIER, **QA**.

Bibliothécaire : M^{lle} LAVAUD, **QA**.



A LA MÉMOIRE DE MES PARENTS

A MON PÈRE ADOPTIF RODERIC CHARLES

*Je dédie cette thèse. Modeste gage de ma
reconnaissance et de mon affection.*

A MA FAMILLE

A MONSIEUR JEAN STOECKEL

Directeur du Centre National des Etudiants
de la France d'outre-mer

A MONSIEUR LABORDE

Inspecteur conseil de l'Instruction publique

ET A LEURS COLLABORATRICES DU MINISTÈRE DES COLONIES

*Auxquels je dois la possibilité d'avoir pu
réaliser ce travail.*

Sentiments de respectueuse gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR RÉGNIER

Professeur de Microbiologie à la Faculté de Pharmacie
Pharmacien des Hôpitaux

*A qui je dois le sujet de cette thèse et qui
a bien voulu en accepter la présidence.
Hommage reconnaissant et respectueux.*

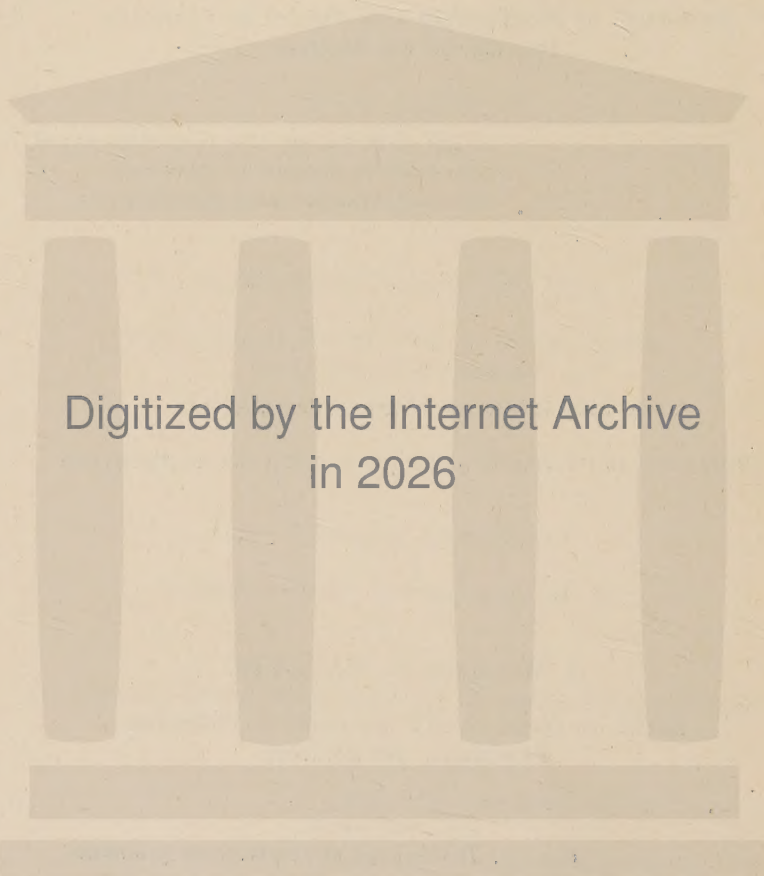
A MONSIEUR LE PROFESSEUR JANOT

Professeur de Pharmacie galénique à la Faculté de Pharmacie

A MONSIEUR G. VALETTE

Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie
Pharmacien des Hôpitaux

Témoignage de respectueuse gratitude.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Influence de l'Acide qui salifie l'Emétine sur la toxicité des sels de cet alcaloïde vis-à-vis de quelques Protistes, *in vitro*

INTRODUCTION

Les travaux de M. le Professeur RÉGNIER et de ses collaborateurs ont montré que l'activité pharmacodynamique des bases anesthésiques locales, de la morphine, de l'atropine... varie avec l'acide qui les salifie. Ces recherches qui l'ont amené à une conception entièrement nouvelle de l'action des alcaloïdes, ont fait entrevoir la possibilité de présenter à l'organisme ou à la cellule, l'alcaloïde sous la forme saline ayant l'activité la plus désirable.

Jusqu'alors en effet, les formes salines employées et qui remontent pour certaines à la découverte de l'alcaloïde, étaient principalement des sels d'acides minéraux en général stables, bien cristallisés et parfaitement définis. Toutefois les bases donnant naissance à des sels d'acides minéraux peu solubles ou altérables ont été combinées à des acides organiques pour faire disparaître ces inconvénients. Parfois on a voulu se rapprocher de la forme saline sous laquelle l'alcaloïde existe vraisem-

blement à l'état naturel, on a voulu aussi associer aux propriétés pharmacodynamiques particulières de la base l'action thérapeutique bien connue de certains acides déterminés ou de leurs sels alcalins.

En somme, la salification de l'alcaloïde par un acide était surtout commandée par des considérations d'ordre physique (solubilité, stabilité) et d'ordre pharmacodynamique (activité propre de l'acide). Pourtant O. GROS (21) avait préconisé d'utiliser des sels d'acides faibles en particulier des carbonates, des bicarbonates qu'il préparait par simple mélange de la base avec les carbonates ou bicarbonates alcalins, car il semblait résulter de ses recherches sur les anesthésiques locaux que, lorsqu'on fait agir une solution aqueuse d'un sel d'alcaloïde sur une cellule vivante, seule agit la base alcaloïdique libérée par hydrolyse du sel.

Pour J. RÉGNIER au contraire, l'acide n'a pas simplement pour fonction de solubiliser la base dans l'eau. Contrairement à la théorie de O. GROS l'acide n'a pas pour but de permettre une plus ou moins grande hydrolyse du sel. Il permet selon sa qualité le passage plus ou moins facile de l'alcaloïde dans la cellule. Par conséquent, sans être actif lui-même, il intervient d'une façon prépondérante dans l'activité du sel alcaloïdique.

La théorie de J. RÉGNIER s'appuie sur un ensemble de faits expérimentaux que nous allons rappeler.

En 1934, J. RÉGNIER et R. DAVID (38) cherchant les meilleures conditions de conservation des solutions de chlorhydrate de cocaïne utilisèrent différents tampons en vue d'obtenir des solutions dont la stérilisation n'altérerait pas l'activité. Au cours de leurs essais, ils s'aperçurent que les solutions tamponnées par des phosphates deve-

naient peu actives après leur passage à l'autoclave ; par contre, les solutions tamponnées par des acétates, présentaient une activité supérieure à celles des solutions faites en présence de phosphates. Ce phénomène fit supposer à ces auteurs que l'acide salifiant la base alcaloïdique avait peut-être une influence sur son activité. Ils entreprirent alors toute une série d'expériences avec de très nombreux sels de cocaïne, en cherchant le degré d'anesthésie obtenue sur la cornée du Lapin, suivant la technique de mesure mise au point par J. RÉGNIER (37).

Si on prend comme unité l'activité du chlorhydrate de cocaïne, on obtient pour les différents sels les résultats suivants :

Citrate	0,2
Lactate.....	0,4
Tartrate.....	0,6
Sulfate	0,8
Phosphate et iodhydrate.....	1
Sulfocyanate.....	1,5
Formiate	2,5
Acétate.....	2,9
Salicylate	4
Benzoate	5
Phénylacétate.....	12

Ces résultats surprenants montrent que l'activité de la cocaïne peut varier d'une manière considérable suivant l'acide qui salifie la base.

Quels sont les facteurs déterminant cette variation ? Les chiffres obtenus montrent clairement que la force de l'acide n'est pas la cause de l'activité du sel, dans ce cas les sels minéraux auraient dû être les plus actifs.

D'autre part, les sels classés suivant l'intensité de leur action ne s'ordonnent pas selon leur degré d'hydrolyse. On ne peut donc admettre que l'accroissement de l'acti-

vité soit dû à une plus grande quantité de base mise en liberté.

La liposolubilité des sels n'explique pas davantage le phénomène qui nous occupe, car l'action croît dans un ordre différent de celui de la dissolution dans les lipides.

On trouve, au contraire, suivant l'activité croissante des sels une série analogue à celle de HOFMEISTER (23), pour l'influence des sels alcalins sur le gonflement de la gélatine ou, dans l'ordre inverse, pour la floculation des albumines.

J. RÉGNIER et R. DAVID (39) ont également remarqué que les sels les plus actifs sont ceux qui sont le plus facilement absorbés par la cornée ; ce fait laissait supposer le rôle important que doit jouer la pénétration plus ou moins facile du sel dans la cellule.

Après avoir montré l'influence de l'acide salifiant la cocaïne sur son activité, J. RÉGNIER reprit cette étude avec R. DELANGE et R. DAVID (42) pour de très nombreux sels de paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol (base de la novocaïne). Il observa que certains acides peuvent annihiler presque complètement l'activité de la base anesthésique (acide orthophtalique, acide hippurique, acide nicotinique) alors que d'autres sels (phénylbutyrate, undécolate, phénylbutylacétate) présentent un pouvoir anesthésique intense, cinquante à soixante fois supérieur à celui du chlorhydrate.

Le pouvoir anesthésique du sel augmente avec le nombre des atomes de carbone de l'acide utilisé particulièrement pour la série benzoïque. Il diminue avec l'introduction de toute fonction supplémentaire (CO_2H — OH — NH_2 — Br — liaison éthylénique) d'autant plus que celle-ci est placée plus près de la fonction acide.

Cette influence de l'acide salifiant la base anesthésique est également perceptible sur d'autres organes que la cornée. J. RÉGNIER et A. QUEVAUVILLER (45) ont montré que les mêmes différences d'activité se retrouvaient sur les nerfs moteurs et sensitifs de *Rana esculenta*, en particulier sur la fibre motrice, le phénylpropionate de novocaïne est 5 à 7 fois plus anesthésique que le chlorhydrate, lui-même 8 à 10 fois plus actif que le citrate. Adami ENRICO (1) confirmant ces recherches sur le sciatique de Cobaye, attribue au phénylpropionate une valeur anesthésique 3 ou 4 fois plus grande que celle du chlorhydrate.

Sur des organismes entiers, comme les épinoches, des résultats comparables furent encore obtenus par J. RÉGNIER, R. DAVID et R. SITRI (41).

Enfin, le même phénomène est perceptible au niveau de la cellule végétale. Les recherches de J. RÉGNIER avec R. DAVID et S. BAZIN (40) d'une part sur *Elodea canadensis* pour les sels de cocaïne, avec A. QUEVAUVILLER (46), d'autre part sur l'*Ascoïdea rubescens* pour les sels de novocaïne, ont montré que là encore l'activité croît dans le sens citrate, chlorhydrate, phénylpropionate. Notons, ainsi que l'a vérifié J. RÉGNIER et comme l'a rapporté J. GILLET (19) que l'acide phénylpropionique n'a pas de propriétés anesthésiques locales et que son sel de sodium n'agit pas plus que le chlorure de sodium sur les divers tests pharmacodynamiques utilisés. Tous ces travaux démontrent bien que l'acide salifiant les bases anesthésiques locales influe beaucoup sur leur activité et cela, sur des objets très divers.

Cette constatation est en contradiction, répétons-le, avec la théorie des auteurs allemands qui pensent que la

partie active du sel alcaloïdique en solution dans l'eau est la petite quantité de base libérée par hydrolyse. Elle s'oppose également à la vieille théorie classique qui, assimilant les sels d'alcaloïdes aux sels ammoniacaux et aux sels minéraux, admet que l'activité est due aux ions. J. RÉGNIER arrive donc à la notion de l'activité de la molécule saline alcaloïdique entière.

J. RÉGNIER a entrepris toute une série de recherches dans cette voie et de nombreux résultats ont déjà été publiés avec la morphine et l'atropine.

L'action inhibitrice de la morphine sur la cellule nerveuse a été publiée par J. RÉGNIER et A. QUEVAUVILLER sur le nerf moteur de *Rana esculenta* (45). Ils ont retrouvé là encore l'ordre observé pour les anesthésiques, à savoir que le citrate est moins actif que le chlorhydrate, tandis que le phénylpropionate l'est davantage.

Par contre, J. RÉGNIER et S. LAMBIN (43) trouvèrent des résultats différents par injection intraveineuse au lapin pour la mesure de la dépression du réflexe oculo-palpébral, l'action du citrate est plus forte que celle du chlorhydrate, elle-même supérieure à celle du phénylpropionate. Ce fait, en apparence contradictoire avec les résultats précédents, s'explique par l'élimination différente des sels étudiés. J. RÉGNIER et S. LAMBIN (44) ont montré en effet que l'élimination urinaire du phénylpropionate de morphine est beaucoup plus rapide que celle du citrate ; quant au chlorhydrate, il provoque des troubles de la diurèse qui interdisent toute mesure.

Etudiant l'action mydriatique de l'atropine sur l'œil énucléé de Grenouille, J. RÉGNIER et A. QUEVAUVILLER (48) ont obtenu les résultats suivants : le sulfate est très actif,

le phénylpropionate l'est moins et produit un effet toxique par désagréations des pigments de l'iris ; quant au citrate, il provoque un myosis croissant avec la concentration de la solution.

Les sels d'atropine ont donc aussi une activité très variable suivant l'acide qui salifie la base, l'influence de l'acide pouvant même amener le renversement de l'action médicamenteuse habituelle.

Récemment, A. QUEVAUVILLER (35) travaillant dans le laboratoire de J. RÉGNIER et sous sa direction, a mis en évidence des faits semblables avec la quinine. C'est ainsi que la toxicité bien connue de cet alcaloïde pour les Protozoaires, son action hémolytique, son action sur les terminaisons et les fibres nerveuses, sa toxicité, son élimination par les urines, son action sur la cellule végétale, dépendent de l'acide qui la salifie.

Particulièrement net dans les cas où la quinine agit directement sur la cellule animale ou végétale, ce rôle l'est encore lorsque le sel alcaloïdique est présenté aux tissus ou administré à l'organisme. En général, les sels s'ordonnent selon la même série qui a été mise en évidence par J. RÉGNIER.

Toutefois, les différences constatées avec les sels de quinine sont bien moins importantes que celles qui ont été trouvées avec la cocaïne, la novocaïne, ou la morphine. La quinine paraît se laisser plus difficilement orienter dans un sens favorable ou défavorable par l'acide qui la salifie. A. QUEVAUVILLER pense que cette absence de mobilité de l'alcaloïde n'est pas étrangère à la nature colloïdale de cette base qui fut longtemps soupçonnée et mise en évidence par les recherches de TRAUBE et ONODERA (57).

Désireux de poursuivre ses recherches sur d'autres

alcaloïdes, Monsieur le Professeur RÉGNIER nous a particulièrement confié l'étude de l'action pharmacodynamique de l'émétine, afin de voir si là encore, l'activité de l'alcaloïde varie avec l'acide qui le salifie.

Nous avons expérimenté sept sels d'émétine (chlorhydrate, gluconate, camphosulfonate, citrate, diéthylacétate, phénylpropionate, phénylbutyrate) sur quatre Protistes (une Amibe, deux Infusoires et un Phytoflagellé).

* * *

Nous ne voulons pas commencer l'exposé de nos recherches, sans dire à Monsieur le Professeur RÉGNIER, Professeur de Microbiologie à la Faculté de Pharmacie, pharmacien des Hôpitaux, combien nous le remercions de nous avoir aidé de sa grande érudition et de nous avoir constamment guidé au cours de nos recherches par ses conseils éclairés.

Nous le prions de trouver ici l'expression de notre gratitude et de notre profond respect.

Notre gratitude va également :

à Monsieur le Professeur JANOT et à Monsieur VALETTE, Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie, qui ont bien voulu faire partie du Jury de cette thèse.

à Monsieur le Professeur BRUMPT, Professeur de Parasitologie à la Faculté de Médecine, qui a eu l'amabilité de nous communiquer la souche de l'Amibe sur laquelle nous avons expérimenté.

à Monsieur RONDEAU du NOYER, Assistant à la Faculté

de Pharmacie, dont les grandes connaissances en Parasitologie furent bien souvent mises à contribution.

à Monsieur QUEVAUVILLER, Assistant à la Faculté de Pharmacie, sous la direction technique duquel nous avons travaillé.

à Messieurs BERNIER et GUIROY pour les conseils qu'ils nous ont donné au sujet de la préparation des solutions des différents sels d'émétine.

Nous remercions aussi tous nos camarades de laboratoire de la sympathie qu'ils ont bien voulu nous témoigner.

Enfin, nous n'oublions pas que c'est à la France que nous devons notre formation intellectuelle.

PLAN

Le *premier chapitre* est réservé à la présentation de l'émétine, ainsi qu'à l'exposé des principales données bibliographiques, concernant ses propriétés pharmacodynamiques.

Le *deuxième chapitre* relate les formes d'utilisation de l'émétine, ainsi que la préparation des nouveaux sels organiques d'émétine à partir du chlorhydrate.

Les autres chapitres s'ordonnent de la façon suivante :

Chapitre III : Entamoeba invadens-Rodhain.

Description de l'amibe.

Sa culture.

Action du pH.

Comportement des amibes vis-à-vis de l'émétine.

Variation de la toxicité du chlorhydrate d'émétine avec le pH.

Variation de la toxicité du chlorhydrate d'émétine avec la température.

Influence de l'acide qui salifie l'émétine.

Chapitre IV : Paramecium caudatum-Ehrenberg et Glaucoma scintillans-Ehrenberg.

Isolement et culture de ces protozoaires.

Identification par coloration.

Action du pH.

Comportement de ces ciliés sous l'influence de l'émétine.

Variation de la toxicité du chlorhydrate d'émétine avec le pH.

Variation de la toxicité du chlorhydrate d'émétine avec la température.

Influence de l'acide qui salifie l'émétine.

Chapitre V : Euglena gracilis-Klebs.

Culture.

Description après coloration.

Action du pH.

Comportement des Euglènes traitées par l'émétine.

Influence de l'acide sur la toxicité de l'émétine base.

Conclusions.

CHAPITRE I

Action pharmacodynamique de l'émétine. Son indication majeure : l'amibiase. Exposé des recherches qui intéressent plus particulièrement l'action sur les Protistes.

L'émétine, ses propriétés pharmacodynamiques.

L'émétine est un alcaloïde que l'on trouve en proportion variable dans les divers Ipéca qui contiennent en outre céphéline et psychotrine.

L'ipécacuanha officinal est l'*Uragoga ipecacuanha* HBn (Rubiacees) du Brésil dont il existe deux sortes sauvages : l'ipécacuanha de Rio et l'ipécacuanha de Matto Grosso et une sorte cultivée dans l'Inde, l'ipécacuanha de Johore.

Le Codex de 1937 admet en outre, l'ipécacuanha de Colombie ou de Carthagène (*Uragoga Granatensis* HBn). Moins riche en émétine que les précédents et plus riche en céphéline, il est plus particulièrement réservé à l'extraction des alcaloïdes.

L'émétine peut être extraite directement de la racine d'ipéca, ou encore être préparée par synthèse partielle à partir de la céphéline, qui constitue un sous-produit

important de la préparation extractive de l'ipéca et n'a pas actuellement d'utilisation pratique.

Elle est généralement employée à l'état de chlorhydrate. BRINDLEY et PYMAN (9) sont parvenus en 1927, à établir la formule structurale du chlorhydrate d'émétine, ratifiant en même temps la formule brute $C_{29}H_{40}O_4N_2 \cdot 2ClH$ établie en 1914 par CARR et PYMAN (12).

On trouve dans LEBEAU et COURTOIS (29) que l'émétine intervient comme émétique à la dose de 10 à 20 mgr. de façon moins intense cependant que la céphéline qui agit à la dose de 5 à 10 mgr. ; par contre elle est plus expectorante à dose relativement élevée.

L'émétine déprime le cœur et produit une dilatation des vaisseaux coronaires, cette dernière action pouvant être obtenue à des doses non nocives pour le cœur ; cette propriété de l'émétine pourrait être utilisée dans certains cas de vasoconstriction comme l'angine de poitrine.

Elle paralyse les fibres lisses et striées, en particulier celles de l'intestin ; elle contracte ou dilate l'utérus suivant la dose ; elle supprime brusquement la menstruation au moment des règles.

Elle facilite les sécrétions et agit comme décongestionnant ; elle est relativement toxique, la dose léthale chez la Souris est 0 gr. 030 par kgr.

Elle est beaucoup plus toxique par voie intraveineuse que par voie sous-cutanée.

Elle exerce une action spécifique vraiment remarquable sur la dysenterie et l'hépatite amibienne, sur l'amibiase pulmonaire. Elle agit aussi efficacement dans les abcès du poumon de toute nature.

Dans les cas de dysenterie amibienne chronique elle

est moins active et on peut retrouver des kystes amibiens dans les fèces de malades considérés comme guéris. Elle donne de bons résultats dans la gangrène pulmonaire et les bronchites fétides à fuso-spirilles, dans le traitement de la bilharziose, de la pyorrhée alvéolo-dentaire, elle a été aussi préconisée comme cure de désintoxication dans l'alcoolisme chronique. On l'emploie comme hémostatique interne dans les hémoptysies, les hématomèses, et aussi comme succédané de l'ipéca dans le traitement de la pneumonie.

L'émétine s'élimine lentement et souvent irrégulièrement de l'organisme. Il peut y avoir une accumulation du médicament déterminant des accidents d'intolérance : nausées, urticaires, crampes, hypotension artérielle, parésies flasques des muscles, surtout ceux du cou.

La dose toxique par accumulation pour l'Homme serait comprise entre 1 gr. 10 et 1 gr. 80. Le chlorhydrate est prescrit le plus généralement par voie hypodermique, à la dose pour un adulte de 0 gr. 08 à 0 gr. 10 par 24 heures, en 2 piqûres. Au-dessus de 0 gr. 10 on observe de légers accidents ; on peut aussi l'administrer par voie buccale en pilules kératinisées. Les solutions pour injections doivent être préparées aseptiquement. On l'utilise chez les jeunes enfants et même chez les nourrissons à des doses beaucoup plus faibles. L'émétine serait également active contre la distomatose causée par la Douve du foie.

En ce qui concerne son action sur les Protozoaires, ZUNZ (64) rapporte que les Paramécies sont sensibles à l'émétine. Leurs mouvements se ralentissent bientôt : si la dose et la durée de contact sont suffisantes, les Paramécies se fragmentent et meurent.

L'émétine n'a guère d'action sur les Trypanosomes ; beaucoup de Bactéries sont, soit tuées, soit entravées dans leur développement par 1 pour 1.000 ou 1 pour 2.000 d'émétine à condition qu'elles restent pendant un temps relativement long en contact avec l'alcaloïde. Les effets de l'émétine sur les diverses espèces d'Amibes sont variables.

L'émétine n'est guère nocive pour l'*Entamoeba gingivalis* (GROS) agent de la pyorrhée alvéolaire, à la concentration de 1 pour 500 en 2 heures et à celle de 1 pour 100 en 1 heure ; mais si la durée de contact est prolongée, toutes les Amibes sont tuées, et il suffit pour cela d'une solution à 1 pour 400.000 d'émétine quand on la laisse agir pendant 6 heures.

Les Amibes d'eau douce sont tuées en 8 minutes par une solution à 1 pour 2.000 de chlorhydrate d'émétine, en 5 heures seulement par une solution à 1 pour 20.000.

Une concentration forte (1 pour 100 ou même davantage) est indispensable pour tuer *in vitro* instantanément l'*Entamoeba histolytica*-Schaudinn. Il suffit au contraire d'une très faible solution (1 pour 50.000 ou moins encore) pour déterminer la mort de ces parasites, si le temps d'action est long. Pourvu que la durée de contact soit suffisante, l'émétine modifie l'aspect microscopique de l'*Entamoeba histolytica*-Schaudinn déjà à la concentration de 1 pour 10.000. La chromatine se condense, puis le noyau disparaît et la chromatine se dissémine.

Le chlorhydrate d'émétine est très toxique pour l'*Entamoeba histolytica*-Schaudinn en milieu liquide à réaction voisine de la neutralité, à condition que la durée de contact entre l'alcaloïde et les Amibes soit suffisam-

ment longue. La concentration de 1 pour 5.000.000 suffit pour tuer toutes les Amibes de la dysenterie amibienne *in vitro* en 4 jours, sauf quand le milieu devient trop acide sous l'influence des Amibes.

Quand on part de cultures en un milieu renfermant à la fois une portion liquide et une portion solide, une partie plus ou moins importante de l'émétine est absorbée par la portion solide et il résulte que les Amibes sont, en réalité, soumises à une concentration beaucoup plus faible en émétine que la quantité de cet alcaloïde introduite dans le tube de culture le ferait croire.

Les concentrations nécessaires pour tuer l'*Entamoeba Coli-Loesch*, *in vitro* et d'autres Amibes, sont, pour une même durée de contact, plus élevées que celles agissant de façon nocive sur l'*Entamoeba histolytica*-Schaudinn ; il en est de même *in vivo* chez le Singe.

L'émétine n'a aucune action contre les agents de la dysenterie bacillaire. On obtient de très bons résultats dans les formes aiguës de dysenterie amibienne par l'injection sous-cutanée ou intramusculaire de chlorhydrate d'émétine. On ne doit jamais faire plusieurs injections successives d'émétine dans un même territoire sous-cutané ou intramusculaire, car on risquerait d'y créer une zone douloureuse, de l'œdème et de la pseudo-inflammation.

Les résultats favorables observés chez l'homme sont dus au passage dans la muqueuse et les ulcérations de l'intestin pendant un laps de temps suffisant, d'une quantité d'alcaloïde maintenant une concentration mortelle pour les Amibes. Il en est encore ainsi chez le Singe, mais pas chez le Chat. On ne parvient à guérir cet animal d'une infection expérimentale par l'*Entamoeba histolyti-*

ca-Schaudinn que si l'on introduit la solution de chlorhydrate d'émétine par voie rectale, car cette substance administrée par voie sous-cutanée s'élimine relativement vite hors de l'organisme par les reins et ne semble guère passer dans l'intestin, chez cette espèce.

Même chez l'Homme, l'émétine n'aurait guère d'action sur les Amibes libres dans la lumière du canal intestinal.

On ne réussit du reste pas toujours par les injections sous-cutanées de chlorhydrate d'émétine, à stériliser l'organisme et l'on admet en général qu'il se crée des races émétino-résistantes. DOBELL et BISHOP (15) se demandent néanmoins s'il en est toujours ainsi et si les échecs ne tiennent pas à des conditions individuelles qui favorisent l'élimination de l'émétine par l'urine et entravent le passage de cet alcaloïde dans l'intestin.

Il apparaît ainsi des propriétés pharmacologiques que nous venons de rapporter, que l'indication majeure de l'émétine réside dans son action élective sur l'amibiase dysentérique. Cette observation a incité les pharmacologues désireux d'expliquer son mode d'action à l'expérimenter sur les Protistes *in vitro*, afin de voir si cette activité reconnue sur l'amibiase était due à une action marquée sur le parasite ou à une toute autre propriété de l'alcaloïde, s'exerçant sur le porteur.

Nous allons donc maintenant nous arrêter plus spécialement sur les principales recherches effectuées à ce sujet, afin de pouvoir nous faire une opinion sur la question et diriger nos expériences en connaissance de cause.

Mode d'action de l'émétine dans l'amibiase.

Les auteurs ne sont pas d'accord quant au mode d'action de l'émétine dans l'amibiase. Agit-elle sur le parasite ou sur le porteur ?

La première hypothèse correspond toutefois aux théories les plus modernes. Nous allons successivement passer en revue les partisans de ces deux théories, et exposer ensuite les travaux divers qui ont été faits avec l'émétine sur les Protozoaires *in vitro*.

Action sur le parasite.

L'émétine fut employée à l'origine par ROGERS (53) en 1912 dans le traitement de la dysenterie amibienne après que WEDER (51) en 1911 eut montré que l'émétine en dilution supérieure à 1 pour 100.000 tuait en vingt-quatre heures les Amibes vivant en culture.

ROGERS (54) constata lui-même que l'*Entamoeba histolytica* des selles placé dans des solutions salées normales de chlorhydrate d'émétine était tué immédiatement pour des dilutions de 1 pour 10.000 et qu'après quelques minutes, il était rendu inactif, et apparemment tué dans des dilutions aussi faibles que 1 pour 100.000.

Le même auteur, en 1914, trouvant douteux le travail sur l'*Entamoeba histolytica* des selles, expérimenta sur des Paramécies. Il constata que l'émétine en dilution à 1 pour 200.000 tuait les ciliés en une heure, à 1 pour 500.000 en trois heures et à 1 pour 1.000.000 en vingt heures.

En 1926, DOBELL et LAIDLAW (16) ont étudié l'action des alcaloïdes de l'ipéca sur diverses Amibes (*Entamoeba*

dysenteriae de l'Homme et du Singe, *Entamoeba coli*, *Entamoeba gingivalis*, *Endolimax nana*) ; ils ont constaté que l'action de l'émétine plus spécialement étudiée est très particulière.

Les solutions étendues à 1 pour 50.000 par exemple tuent les Protozoaires en plusieurs jours ; les solutions à 1 pour 200.000 ont encore un rôle néfaste, par contre, les solutions concentrées à 1 pour 1.000 ou même 1 pour 100 n'amènent pas, comme on pourrait le croire, la mort immédiate des Amibes.

Il s'agit donc, dans la dysenterie amibienne traitée par l'émétine, d'une action directe du médicament sur l'agent pathogène.

Entamoeba coli, *Entamoeba gingivalis*, *Endolimax nana* se sont montrés *in vitro* beaucoup moins sensibles à l'émétine que l'*Entamoeba dysenteriae*. L'émétine se montre 100 fois plus toxique pour cette dernière Amibe que pour l'*Entamoeba coli*.

Les auteurs ont en vain essayé d'obtenir une race d'*Entamoeba dysenteriae* éméтино-résistante en réensemencant à des intervalles divers, les Amibes se développant sur milieu additionné de solutions d'émétine.

En 1929, LAIDLAW, DOBELL et BISHOP (28) en expérimentant sur des Amibes cultivées dans un milieu liquide simple (pour éviter l'absorption par la partie solide d'une proportion plus ou moins grande d'émétine) constatent qu'une solution d'émétine à 1 pour 5.000.000 tue toutes les Amibes dysentériques *in vitro* en quatre jours, surtout en milieu alcalin et à condition que le milieu ne devienne pas trop acide. Ce pouvoir amibicide si considérable de l'émétine peut être modifié par une variation relativement faible dans la réaction du milieu. Ces

résultats confirment, d'après ces auteurs, l'opinion que l'efficacité thérapeutique de l'émétine dans la dysenterie amibienne est due à une action directe sur l'Amibe. Mais il ne faut pas oublier que beaucoup d'émétine se trouve retenue avant d'arriver à l'intestin et que là même, il y en a encore une certaine quantité d'absorbée par les détritits solides.

Ann BISHOP (5) en 1931 reprenant les expériences de DOBELL et LAIDLAW sur l'*Entamoeba coli* s'est servie d'un milieu liquide tamponné (sérum de cheval au 1/8 dans le liquide de Ringer additionné de 0,2 pour 100 de phosphate bibasique, ajustement final 7,2).

Deux souches différentes d'*Entamoeba coli* différant par la flore bactérienne adjointe, et par l'histoire expérimentale (toutes deux proviennent du Macaque, mais l'une d'elle a passé par l'Homme), mais morphologiquement identiques, ont servi aux expériences de BISHOP. Dans un tel milieu complètement liquide, à pH variable de 6,8 à 7,2, le chlorhydrate d'émétine s'est montré toxique à des dilutions allant de 1 pour 300.000 à 1 pour 600.000. La toxicité croissant avec l'alcalinité du milieu, l'auteur conclut que l'émétine est 16 fois plus toxique pour l'*Entamoeba dysenteriae* que pour l'*Entamoeba coli*.

En 1934, J. H. ST-JONH (25) cherche l'action de l'émétine sur l'amibe dysentérique en culture. Deux souches du Protozoaire ont été expérimentées. Elles étaient entretenues depuis longtemps sur un milieu liquide et tamponné, préconisé par l'auteur.

Ce dernier a remarqué que l'action du chlorhydrate d'émétine sur les cultures d'Amibes est différente suivant que celles-ci sont en milieu acide ou alcalin.

Dans le premier cas *Entamoeba dysenteriae* meurt en

5 heures à la concentration de 1 pour 1.290, en 24 heures à 1 pour 10.000, en 3 jours à 1 pour 20.000, en 5 jours le plus généralement à 1 pour 50.000. L'émétine à 1 pour 100.000 ne tue plus les Amibes, mais empêche leur développement sur un milieu ainsi préparé ; à 1 pour 400.000 d'émétine, l'Amibe résiste parfaitement 47 jours et la culture sur un tel milieu est tantôt activée, tantôt ralentie.

En milieu alcalin *Entamoeba dysenteriae* est tué régulièrement par addition d'émétine à 1 pour 1.000.000 en 2 à 3 jours et à 1 pour 5.000.000 en 3 à 4 jours.

L'auteur montre que l'effet de l'émétine est 10 à 50 fois plus fort en milieu alcalin qu'en milieu acide et il se demande si l'on ne pourrait pas alcaliniser les individus soumis à l'émétine pour obtenir une action plus efficace.

Action sur le porteur.

D'autres travaux que nous allons maintenant passer en revue semblent montrer que l'émétine est peu active *in vitro* et que son activité dans l'amibiase s'explique par une action sur le porteur.

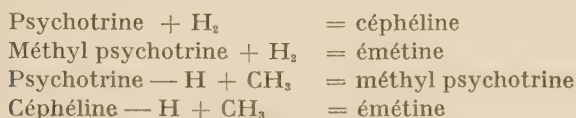
En particulier LYONS (32) travaillant sur l'Amibe des selles en 1912, avec de l'ipéca d'une force indéterminée, n'a pas obtenu d'action amibicide *in vitro*.

WHERRY (62) à la même époque, sur des Amibes de culture, trouva que l'émétine était fréquemment mortelle pour des dilutions de 1 pour 20.000, mais que souvent aussi ces mêmes dilutions étaient sans effet.

KUENEN et SWELLENGREBEL (27) en 1919 appliquant directement l'émétine à l'Amibe des selles, constatèrent que des dilutions de chlorhydrate d'émétine à 1 pour

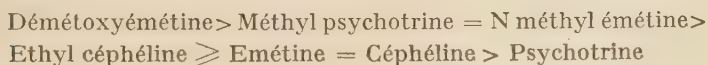
10.000 et même à 1 pour 5.000 étaient généralement inefficaces.

DALE et DOBELL (13), en 1917 pour se rendre compte de l'effet thérapeutique de diverses substances, alcaloïdes et autres, ont d'abord recherché leurs effets *in vitro*, en solution physiologique, sur les matières renfermant des Amibes bien émulsionnées dans l'eau physiologique et gardées à 37°. Ils ont opéré d'abord avec les alcaloïdes de l'ipéca, émétine, céphéline, psychotrine et un corps nouveau, méthyl-psychotrine, tous corps à noyau isoquinoléine et reliés chimiquement entre eux de la façon suivante :



Par réduction de la méthyl psychotrine, une base bien cristallisée, probablement une démétoxy émétine, a été isolée : Enfin, deux autres corps ont été employés : N méthyl émétine, obtenu par substitution d'un H du groupe amidogène par un CH₃ et l'éthyl céphéline. Toutes ces bases ont été utilisées à l'état de sels, chlorhydrate, bromhydrate ou sulfate.

Au point de vue de leur activité *in vitro*, sur les Amibes, ces substances peuvent être classées dans l'ordre suivant :



cette dernière étant dépourvue de toute activité.

Mais le fait à noter est que l'activité de l'émétine s'est

révélée considérablement moindre que ne l'avait dit ROGERS (53).

Il faut arriver à des concentrations au moins égales à 1 pour 100 pour déceler une action, alors que ROGERS trouvait les dilutions à 1 pour 10 000 déjà très actives. Les auteurs ne peuvent s'expliquer cette différence que par une erreur de la part de ROGERS.

La méthyl psychotrine, qui est plus toxique pour l'Amibe dysentérique *in vitro* que l'émétine, et en même temps beaucoup moins toxique pour les Mammifères, a été essayée cliniquement dans l'amibiase humaine ; elle a paru tout à fait sans action quoique donnée à très forte dose et dans des cas qui ont pu être ensuite guéris par le bi-iodure.

Les auteurs sont amenés à discuter la question du mode d'action de l'émétine dans l'amibiase, étant donnée sa faible action *in vitro*. Il est probable, concluent-ils, que l'émétine agit plutôt sur l'hôte que sur le parasite.

WILLIAMS ALLAN (2) en 1921, expérimentant sur des selles de cinq provenances différentes, constate qu'en aucun cas l'aspect ou la mobilité des Amibes n'ont été affectés par une dilution plus faible que 1 pour 2.000, avec action de 1 à 2 heures, et souvent le parasite n'a pas été tué dans le même temps par une solution à 1 pour 150. L'action thérapeutique de l'émétine s'exercerait d'après lui plutôt sur l'organisme du malade que sur l'Amibe.

L'année suivante le même auteur (3) a cherché à compléter sa démonstration en recherchant l'action du sang ou du sérum, auxquels on ajoute de l'émétine, sur les Amibes telles qu'elles se présentent dans les selles dysentériques.

Au sang complet était ajouté un volume égal de solution citratée à 4 pour 100 et émétinisée à 1 pour 500.

Au sérum d'Homme ou de Chat, était ajoutée une solution d'émétine à 1 pour 200. On mélangeait selles et sang (ou sérum) à parties égales et on observait entre lames et lamelles. Dans ces conditions, l'auteur n'a observé aucune action particulière sur les Amibes. Mêmes résultats négatifs en se servant de sang d'Homme ou de Chat, extraits deux à trois heures après injection d'une dose thérapeutique d'émétine.

En 1922, E. ESCOMEL (18) conclut que, d'après lui, l'émétine agit non seulement par son action toxique sur l'Amibe, mais parce que les hématies émétinisées sont devenues impropres à la nourriture des Amibes.

In vitro, des Amibes retirées du rectum d'un malade traité, n'englobent plus les hématies retirées du doigt du même malade, mais englobent les hématies d'un individu sain.

Action toxique de l'émétine sur les Protozoaires.

Nous ne rappellerons pas ici les travaux que nous avons déjà cités dans un paragraphe précédent. Signalons que KOLMER et SMITH (26) en 1916 ont étudié l'activité du chlorhydrate d'émétine *in vitro* sur divers Bactéries et Protozoaires : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus salivarius*, *Bacillus typhosus*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, *Trypanosoma equiperdum*, *Entamoeba gingivalis* (germicide contrôle phénol).

Ils ont constaté qu'en solution à 5 pour 100, le sel d'émétine peut, après un certain temps de contact se

montrer vis-à-vis du Bacille typhique aussi actif et même davantage que des dilutions correspondantes de phénol.

Pour stériliser une émulsion de pus contenant diverses bactéries de pyorrhée alvéolaire, quarante cinq minutes de contact ont été nécessaires à une solution à 2 pour 100, tandis que le phénol donne un résultat semblable en moins de 5 minutes.

Une solution à 0,50 pour 100 d'émétine demande une heure et demie pour une stérilisation que le phénol accomplit en moitié moins de temps.

Du sang citraté de rats infectés par l'une des espèces de Trypanosomes ci-dessus, était soumis à 40° au contact de l'émétine, les dilutions étaient encore actives à 1 pour 25.000 pour *Trypanosoma Lewisi* (1 heure). Il fallait une solution à 1 pour 6.000 pour arrêter les mouvements de *Trypanosoma equiperdum* (1 heure).

Quant à l'Amibe, les auteurs constatèrent que l'émétine en dilution supérieure à 1 pour 1.280 arrêta tout mouvement dans une heure. Mais ils indiquèrent que les résultats étaient faussés par l'ensemble des matières organiques et particulièrement par le pus qui s'y trouve.

En 1917 PYMAN et WENNYON (34) ont comparé l'action amibicide de l'émétine avec certains dérivés et d'autres alcaloïdes. Ils se sont servis de culture sur gélose (milieu de Walker) en pleine activité, d'une Amibe isolée de l'eau du type *Limax*. On incorporait au milieu les alcaloïdes en solution aqueuse à 1 pour 1.000, 1 pour 10.000, 1 pour 100.000.

Les chlorhydrates d'émétine et de céphéline, les bromhydrates de N méthyl éméteine et de N méthyl céphéline, l'oxalate de N méthyl éméteine, se sont montrés à peu près également amibicide (action totalement inhibante à

1 pour 1.000 et à 1 pour 10.000, partiellement à 1 pour 100.000.

Le « metochloride » de N méthyl émétine, le chlorhydrate de rubrémétine, le chlorhydrate B, obtenu par oxydation de la céphéline et le chlorhydrate de norémétine sont moins amibicides (l'action à 1 pour 10.000 n'est que partiellement inhibante).

Le sulfate de psychotrine se place en dernière ligne. Les rapports entre la constitution chimique et le pouvoir amibicide ne paraissent pas se dégager nettement. Ainsi, la psychotrine et la céphéline qui ne diffèrent que par 2 H en moins dans le noyau du premier, agissent tout à fait différemment.

A la même époque, les auteurs WALTERS et KOCK, WALTERS, ECKLER et KOCK, WALTERS, BACKER et KOCK (60) ont entrepris une étude pharmacologique des alcaloïdes de l'ipéca et de certains dérivés synthétiques de la céphéline.

L'émétine qui est un dérivé méthylé de la céphéline étant plus amibicide et moins émétisante et toxique que la céphéline, ces auteurs ont préparé des esters de la céphéline avec des alcools, depuis l'alcool éthylique jusqu'à l'alcool allylique.

Il s'en suit que la toxicité de ces produits, ainsi que leur pouvoir émétisant décroît à mesure que l'on emploie des alcools plus élevés.

En ce qui concerne plus spécialement l'action sur les Protistes, une étude minutieuse qui a porté sur des Amibes libres en culture, sur des *Entamoeba buccalis* retirées de cas de pyorrhée, sur des Paramécies et, enfin, sur des Staphylocoques dorés, a permis de tirer les conclusions suivantes : le chlorhydrate d'émétine en solution à 1 pour 1.000 pendant une heure et en solu-

tion à 1 pour 5.000 pendant trois heures, détruit la plupart des Amibes de l'eau, mais non toutes. A la dilution de 1 pour 200.000, mélangé à des cultures d'Amibes pendant 1, 4 et 7 heures, il en détruit beaucoup ; mais par réensemencement, on obtient tardivement une croissance d'Amibes provenant sans doute de formes enkystées ou résistantes. Même en solution à 1 pour 100, l'*Entamoeba buccalis* n'est pas rapidement détruit, il résiste parfois plus d'une heure. La propyl et l'iso-amyl céphéline ont un pouvoir amibicide supérieur à celui de l'émétine. Mais les Amibes de l'eau et de la bouche ne constituent pas de bons tests pour mesurer cette action.

On sait déjà que la méthylation de la céphéline pour donner l'émétine amène une augmentation du pouvoir entamibicide ainsi que celle du pouvoir paramibicide ; la substitution au groupement méthyle des groupements éthyle, allyle, augmente encore ces pouvoirs. Le phosphate d'iso-amyl-céphéline est le plus actif sur les Paramécies, il l'est 15 à 20 fois plus que le phosphate d'émétine.

Quant à l'action sur le *Staphylococcus aureus*, l'émétine se laisse beaucoup distancer par le phosphate de propyl céphéline, germicide en solution à 1 pour 222 et le phosphate d'iso-amyl céphéline bactéricide en solution à 1 pour 4120.

En 1935, RODHAIN et VAN HOFF (50) en travaillant sur une Amibe pathogène pour les Reptiles (*Entamoeba invadens*) ont établi que pour empêcher d'une façon certaine le développement de cette Amibe dans un milieu de culture qui comporte du sérum de Mouton coagulé et du Ringer albumineux, il fallait une concen-

tration à 1 pour 250 de chlorhydrate d'émétine dans la partie liquide.

L'ingestion de cultures à concentration d'émétine à 1 pour 5.000, peut encore infecter les animaux sensibles, alors que l'absorption de ce même liquide à 1 pour 625 d'émétine n'est plus suivi d'infection.

A la suite de ces constatations, les auteurs ont voulu essayer la valeur thérapeutique du chlorhydrate d'émétine, dans le traitement de l'amibiase des Serpents. Ils ont conclu de leurs expériences que le chlorhydrate d'émétine administré par injection sous-cutanée à des doses presque toxiques ne peut guérir l'amibiase expérimentale due à *Entamoeba invadens* chez les Vipérines et que cette Amibe est beaucoup plus résistante que l'Amibe dysentérique *in vivo*.

Existe-t-il une accoutumance à l'émétine ?

Nous avons vu que DOBELL et LAIDLAW (16) n'ont pas réussi à créer une accoutumance de l'Amibe à l'émétine.

En 1939, H. BONNIN et R. ARETAS (7) étudièrent deux souches d'Amibes dysentériques S et M IV d'origine différente. Ils sont parvenus à créer chez ces Amibes une accoutumance à l'alcaloïde.

Ces deux souches d'Amibes sont tuées en culture par le chlorhydrate d'émétine à 1 pour 15.000 en moins d'une heure. La concentration supportée est de 1 pour 90.000.

La souche S par culture dans des milieux renfermant de l'émétine en dilution décroissante (à partir de 1 pour 800.000) à pu être adaptée à se développer jusqu'à

une concentration de 1 pour 1.500 ; la souche M IV n'a pu être adaptée que jusqu'à 1 pour 7.500.

Ces auteurs concluent que la résistance à l'action de l'émétine *in vitro*, est variable avec les souches d'Amibes. On l'augmente aisément en accoutumant les Amibes à des solutions croissantes de chlorhydrate d'émétine.

Cette accoutumance ne va pas sans modifications importantes de la morphologie et de la vitalité des Amibes. Ces modifications de morphologie et de vitalité des Amibes disparaissent par passages sur milieux sans émétine, du moins quand le taux d'émétine n'a pas été trop élevé. Il semble qu'il demeure chez de telles Amibes une fragilité moindre et une résistance plus grande à l'émétine, mais très légère.

Action du sérum d'Homme émétinisé sur le développement d'une culture d'Amibe dysentérique.

La même année, les auteurs précédents (8) ont étudié sur l'*Entamoeba dysenteriae* en culture, l'action d'un sérum d'Homme ayant reçu de l'émétine.

DOPTER et DESCHIENS (17) ont montré qu'en remplaçant le sérum de Cheval par le sérum humain dans le liquide de couverture des milieux de culture d'Amibes, les cultures sont plus rapides et plus riches. On observe des divisions au bout de 48 heures. Le nombre des Amibes dans les cultures de même âge varie dans la proportion de 4 à 1. C'est pourquoi BONNIN et ARETAS ont employé le sérum d'un Homme aussi peu suspect d'amibiase que possible ayant reçu en 10 jours 40 cg. de chlorhydrate d'émétine. On n'observe d'Amibes végétatives (souche S)

que le quatrième jour. La taille des Amibes est restée plus petite que la souche témoin. Pas de tendance à la division, elles conservent une forme arrondie, sont peu mobiles et émettent de rares pseudopodes. Au cinquième jour, légère augmentation de taille, mais les Amibes restent arrondies, peu mobiles et n'ont pas tendance à se diviser.

Réensemencées sur des milieux neufs, ces Amibes reprennent après deux repiquages, leurs caractères initiaux.

En employant comme liquide de couverture, du sérum d'Homme recueilli un mois après la dixième et dernière injection quotidienne de 4 cg. de chlorhydrate d'émétine, on ne remarque aucune différence avec un sérum normal.

Conclusion.

Nous voyons qu'il est assez difficile de se faire une opinion nette sur la question.

S'il apparaît bien que l'émétine agit manifestement par sa toxicité pour l'Amibe, il n'en est pas moins vrai que d'autres mécanismes peuvent entrer en ligne de compte.

Ainsi, sa propriété anti-hémorragique a été invoquée. De même, on a pu supposer que ce n'est pas l'alcaloïde qui agirait sur le parasite, mais plutôt un produit de transformation, formé dans l'organisme.

Quoi qu'il en soit, conformément aux conclusions de ROGERS (53), LAIDLAW, DOBELL et BISHOP (28), J.-H. ST JONH (25), etc..., l'étude de la toxicité de l'émétine sur les Protistes *in vitro*, nous paraît une recherche suffisam-

ment significative pour résoudre le problème qui nous intéresse, à savoir, l'influence de l'acide qui salifie l'alkaloïde sur son activité pharmacodynamique.

C'est pourquoi nous avons adopté ce mode d'expérimentation en nous adressant à divers Protistes dont l'étude est particulièrement facile *in vitro*.

CHAPITRE II

Formes d'utilisation de l'émétine. Les nouveaux sels, leur préparation.

Comme nous l'avons déjà dit, l'émétine n'est employée presque uniquement que sous forme de chlorhydrate administré en injections.

Ce sel a l'inconvénient d'être assez toxique et de provoquer des phénomènes d'intolérance que nous avons relatés.

Aussi a-t-on essayé de trouver des produits bien supportés par le tube digestif, permettant la mise en liberté progressive d'émétine, moins toxiques et plus actifs.

C'est ainsi que l'on a préconisé :

Iodure double d'émétine et de *bismuth* qui contient 18,20 pour 100 de bismuth et 30,60 pour 100 d'émétine. Il se présente sous la forme d'une poudre rouge brique insoluble dans l'eau, mais s'y dissociant en donnant naissance à de l'iodure d'émétine, de l'acide iodhydrique et de l'oxyiodure ;

l'aurémétine : combinaison de chlorhydrate d'auramine (16 pour 100), de chlorhydrate d'émétine (28 pour 100), et d'iode (56 pour 100). Elle se présente sous

forme d'une poudre brun-marron insoluble dans l'eau ;

l'iode double d'émétine et de bismuth et l'aurémétine parviennent à détruire les Amibes enkystées, ce que ne font pas les injections sous-cutanées de chlorhydrate d'émétine ;

le *périodure d'émétine* : poudre cristalline pourpre foncée, contenant 38,7 pour 100 d'émétine et 61,3 pour 100 d'iode. Il serait particulièrement efficace dans la schistosomiase ;

l'*émétol* : solution d'émétine dans l'huile d'olive, contenant 60 mg. d'émétine pour 8 cc. d'huile d'olive. S'administre en lavement dans un mélange d'éther et d'huile d'olive.

Pour combattre l'action dépressive sur le cœur et l'action hypotensive (J. GUGIELMETTI et F. ARRILIAGA (22), C. A. GRAU (20) dès 1933, a songé à combiner l'émétine avec un acide dont l'action tonicardiaque est bien connue, l'acide camphosulfonique.

Ce sel dont l'expérimentation pharmacologique a été faite par YMAZ et PASTOR (65) serait pour un tiers moins toxique que le chlorhydrate.

En outre, BERETERVIDE (4) a montré qu'il est mieux toléré par les malades et détermine une réaction locale moins intense. Son efficacité serait la même que celle du chlorhydrate.

Comme GRAU l'avait prévu, l'action déprimante de la base se trouve partiellement neutralisée par l'action stimulante du radical acide camphosulfonique.

En dehors de cette tentative qui s'appuie d'ailleurs sur des considérations théoriques tout à fait différentes des

nôtres, nous n'avons pas relevé dans la littérature d'expérimentation effectuée avec d'autres sels d'émétine.

Les expériences effectuées par DALE et DOBELL (13) avec les alcaloïdes de l'ipéca et les dérivés de l'émétine, ne sauraient être rapprochées de notre hypothèse de travail.

En dehors du chlorhydrate, nous avons préparé six sels d'émétine en solution aqueuse et en liquide de Ringer, selon les directives que nous donnons ci-dessous.

Les solutions ont été titrées en base, de façon à ce que les quantités d'alcaloïde expérimentées salifiées par les divers acides, soient égales.

Ainsi, les variations d'action observées seront bien attribuables à l'influence de l'acide, et non aux proportions variables des sels en alcaloïde.

Le produit de départ est constitué par le chlorhydrate d'émétine.

Ce sel contient des quantités variables d'eau de cristallisation.

La pharmacopée belge	(1930) décrit un sel anhydre		
— hollandaise	admet jusqu'à 14 p. 100 d'eau		
— britannique (1934)	—	15 à 19	—
— espagnole (1930)	—	19	—
— allemande (1926)	—	10	—
— française (1937)	—	10	—

C'est ce dernier sel qui nous a servi.

Il correspond à la formule :



Il contient donc :

Émétine base anhydre.....	77,93	pour 100
Acide chlorhydrique	11,83	—
Eau	10,23	—

Il est exempt de céphéline.

Méthode de préparation des sels à acides organiques d'émétine.

On isole la base émétine en la précipitant, par la soude en solution aqueuse.

On salifie ensuite cette base par l'acide choisi. Remarquons de suite que la base émétine est extrêmement altérable à l'air et à la lumière. En conséquence, on opérera à l'abri de la lumière trop vive du jour ; les manipulations auront lieu autant que possible sous azote. Enfin, on utilisera de l'eau distillée privée de l'air dissous par ébullition prolongée.

Préparation de l'émétine base.

Si l'on désire préparer une quantité de sel organique d'émétine telle qu'elle contienne 10 gr. d'émétine base, on doit prendre :

$$\frac{616 \times 10}{480} = 12 \text{ gr. } 833 \text{ de chlorhydrate Codex } 1937.$$

Cette quantité de chlorhydrate d'émétine sera introduite dans une ampoule à décantation et dissoute dans 150 cm³ d'eau distillée bouillie et légèrement tiède.

L'air qui se trouve à la partie supérieure de l'ampoule est balayé par un rapide courant d'azote, et l'ampoule est bouchée.

On mesure dans un récipient gradué une quantité de soude correspondant à l'émétine base mise en jeu + 5 pour 100.

$$\frac{80 \times 10 \times 1,05}{480} = 1 \text{ gr. } 750$$

soit en soude 2 N

$$\frac{1.000 \times 1,75}{80} = 21 \text{ cc. } 85 \text{ environ.}$$

Cette liqueur alcaline est versée par petites portions dans l'ampoule à décantation contenant la solution aqueuse de chlorhydrate d'émétine.

A chaque affusion, on agite vigoureusement pour éviter la formation de gros grumeaux.

On laisse reposer quelques instants, puis on introduit 40 à 50 cc. d'éther pour dissoudre la base précipitée.

Après agitation, on laisse reposer quelques minutes avant de procéder à la décantation.

On soutire alors la couche aqueuse inférieure qui contient l'excès de soude, du chlorure de sodium et une très faible quantité d'émétine.

Cette solution aqueuse sera traitée une seconde fois par une minime quantité d'éther.

Après soutirage, cet éther est réuni au premier ; on lave rapidement cette solution éthérée avec quelques centimètres cubes d'eau distillée bouillie, et on obtient ainsi une solution de base émétine dans l'éther.

C'est cette solution qui sert à la préparation des différents sels d'émétine.

Nous distinguerons deux modes de préparation :

1^o Un premier pour les acides solubles dans l'eau, tels que acides gluconique, camphosulfonique, citrique ;

2^o Un second pour les acides peu solubles dans l'eau et solubles dans l'éther, tels que acides diéthylacétique, phénylpropionique et phénylbutyrique.

I. — Sels d'émétine à acides solubles dans l'eau.

GLUCONATE D'ÉMÉTINE.

L'acide gluconique a pour formule :



Pour 10 gr. d'émétine base, il faudra, puisque l'émétine est bibasique :

$$\frac{196 \times 2 \times 10}{480} = 8,166.$$

On dissout la quantité théorique d'acide pur dans de l'eau distillée bouillie et tiédie, à une température inférieure à 35° C.

Cette solution est ajoutée à la solution étherée de base. Le sel d'émétine se forme et passe dans la solution aqueuse.

Pour éviter une perte due au coefficient de partage du sel organique formé, entre l'eau et l'éther, on rechauffe légèrement le vase qui contient la préparation, avec les précautions d'usage, de manière à distiller la totalité de l'éther.

Le sel organique d'émétine passe en totalité dans la solution aqueuse.

Pour éliminer les dernières traces de solvant, on porte la solution aqueuse du sel organique d'émétine sous une cloche à vide sulfurique, et on y crée un vide tel que la solution entre en légère ébullition. On maintient cette ébullition quelques minutes : toute odeur d'éther disparaît.

Le liquide est alors recueilli dans un vase gradué où il sera amené au volume désiré.

CAMPHOSULFONATE D'ÉMÉTINE.

L'acide camphosulfonique a pour formule :



Pour 10 gr. de base, il faudra :

$$\frac{464 \times 10}{480} = 9 \text{ gr. } 666 \text{ d'acide camphosulfonique.}$$

Cette préparation se fera exactement comme celle du gluconate.

L'acide employé est l'acide de Reyhler.

CITRATE D'ÉMÉTINE.

L'acide citrique a pour formule :



Le sel formé sera le citrate triémétinique.



Pour 10 gr. de base, il faudra :

$$\frac{480 \times 10}{480 \times 3} = 2 \text{ gr. } 916.$$

On ajoutera un léger excès d'acide citrique. Ainsi, on obtiendra un mélange de citrates triémétinique et diémétinique, dont le rapport sera réglé par le pH que l'on désire obtenir.

La préparation se fera comme les précédentes.

II. — Sels d'émétine à acides solubles dans l'éther.

On opérera comme pour les sels à acides solubles, dans l'eau, mais l'acide choisi sera dissous dans une

petite quantité d'éther, cette solution sera réunie à la solution éthérée de la base.

Une certaine quantité d'eau tiède sera ensuite ajoutée à la solution éthérée, on distillera l'éther et on continuera comme pour le Gluconate.

DIÉTHYLACÉTATE D'ÉMÉTINE.

L'acide diéthylacétique a pour formule :



Pour 10 gr. d'émétine, on emploiera :

$$\frac{116 \times 2 \times 10}{480} = 4 \text{ gr. } 833 \text{ d'acide.}$$

PHÉNYLPROPIONATE D'ÉMÉTINE.

Préparation analogue à celle du diéthylacétate.

L'acide phénylpropionique a pour formule :



Pour 10 gr. d'émétine base, il faudra :

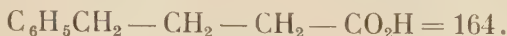
$$\frac{150 \times 2 \times 10}{480} = 6 \text{ gr. } 25.$$

La solubilité du phénylpropionate d'émétine étant celle d'une quantité de sel correspondant environ à 2 pour 100 de base, la quantité d'eau distillée à ajouter sera de 475 cc. environ. Après élimination des dernières traces d'éther, on ajustera à 500 cc.

PHÉNYLBUTYRATE D'ÉMÉTINE.

Le sel sera préparé comme le précédent.

L'acide phénylbutyrique a pour formule :



Pour 10 gr. d'émétine base, il faudra :

$$\frac{164 \times 2 \times 10}{480} = 6 \text{ gr. } 83.$$

La solubilité du phénylbutyrate d'émétine étant environ de 1 pour 100 de base, il faudra que la quantité d'eau distillée, soit de 950 cc. Après élimination de l'éther, on ajustera à 1.000 cc.

Solutions de sels organiques d'émétine en solution de Ringer.

Indépendamment d'une série d'ampoules faites en eau distillée, nous avons préparé une série d'ampoules en solution de Ringer, dont nous rappelons ci-dessous la formule :

Chlorure de sodium	6 gr.
Chlorure de potassium	0 gr. 075
Chlorure de calcium cristallisé.	0 gr. 10
Bicarbonate de soude	0 gr. 10
Eau distillée, q. s. p.	1.000 cc.

Ces solutions n'ont donné lieu à aucune remarque spéciale.

Mise en ampoules et stérilisation.

Ces solutions ont été réparties en ampoules de verre blanc dont la neutralité a été vérifiée.

Les solutions des différents sels d'émétine ont été préparées aux concentrations suivantes :

Chlorhydrate	à 4 pour 100 de base émétine	
Gluconate.....	4	—
Camphosulfonate	4	—
Citrate	4	—
Diéthylacétate.....	4	—
Phénylpropionate	2	—
Phénylbutyrate.....	1	—

Ces solutions ont été stérilisées par tyndallisation effectuée à la température de 63° C, par trois chauffages de 2 heures chacun, à 24 heures d'intervalle.

pH des solutions.

Les pH de ces différentes solutions ont été pris à l'aide d'un comparateur de Hellige.

On a employé à cet effet, l'échelle colorimétrique de Michaëlis.

Les résultats à 18° C ont été les suivants :

	En solution dans l'eau distillée	Après tyndall. dans l'eau distillée	Après tyndall. dans le Ringer
Chlorhydrate	5,1	5,9	6,2
Gluconate.....	4,7	5,1	6,8
Camphosulfonate	4,9	4,9	6,0
Citrate	5,6	5,5	5,9
Diéthylacétate.....	4,9	5,1	6,8
Phénylpropionate	5,7	4,9	6,8
Phénylbutyrate.....	5,9	5,9	7,0

CHAPITRE III

Action des sels d'émétine sur une amibe ; *Entamoeba invadens*-Rodhain.

Entamoeba invadens est une Amibe dont la morphologie est très voisine de celle de l'Amibe dysentérique.

Pathogène pour les Serpents mais non pour l'Homme, elle peut se cultiver très facilement et se laisser expérimenter à la température du laboratoire, ce qui simplifie beaucoup son observation.

Si l'on s'adresse, en effet, à l'Amibe dysentérique beaucoup plus fragile, l'expérimentation nécessite un appareillage spécial permettant de la maintenir sans discontinuité à une température de 37° (étuve à culture, étuve de Foot). De plus, les risques de contamination ne sont pas négligeables.

Cette Amibe a été signalée aux Etats-Unis par RATCLIFFE et GEIMAN (36) en 1933 et 1934, chez trois espèces de Lacertiens et sept espèces de serpents du Jardin zoologique de Philadelphie, étudiée et décrite en 1934 par RODHAIN (49) sous son nom spécifique.

D'après l'auteur, l'Amibe montre à l'examen direct un endoplasme bordé par une zone relativement étroite d'ectoplasme.

En mouvement, elle pousse des pseudopodes lobés, lents, l'endoplasme contient le plus souvent des bactéries, parfois des grains arrondis et de petites masses irrégulières très réfringentes.

Le noyau arrondi est visible, montrant à la périphérie un cercle de fines granulations réfringentes. Le caryosome n'est pas distinct. Dans les formes en voie d'enkystement, on peut fréquemment distinguer, grâce à leur réfringence, à côté d'une production vacuolaire oblongue de petites masses allongées, en nombre variable. Les kystes ont quatre noyaux.

Dans les cultures sur milieu de BOECK, ou au sérum de Mouton, avec ou sans amidon de riz, les Amibes se développent mieux à la température de 23 à 25°. Dans ces cultures, les formes végétatives deviennent notablement plus mobiles que chez l'hôte naturel, et il n'est pas rare d'en observer avec un mouvement du type *limax*. La distinction entre l'endo et l'ectoplasme s'atténue ; le noyau reste visible, la couronne de fines granulations réfringentes qui la borde est nettement distincte, alors que le caryosome est inapparent.

Les détails de structure visibles à l'état frais, deviennent plus distincts chez les Amibes soumises à l'action du Lugol.

Après fixation et coloration à l'hématoxyline ferrique, le noyau occupe dans l'endoplasme une situation périphérique. Il est vésiculeux, possède une couche de chromatine périphérique et un caryosome généralement central. A différenciation également poussée, l'aspect du caryosome varie suivant que la fixation a été faite au Schaudinn ou au Bouin.

Dans les formes végétatives fixées au Schaudinn, le

caryosome est petit, entouré d'un halo clair, la couche de chromatine périphérique est souvent réduite à une série linéaire de fins granules.

Dans les Amibes fixées au Bouin, le caryosome formé par un grain chromatique central, est entouré de granulations moins colorées qui, lorsque la différenciation est poussée à l'extrême, cèdent toute la matière colorante et ne dessinent plus autour du point central qu'une zone à peine teintée.

Dans les mêmes préparations, moins différenciées, le caryosome apparaît constitué par une masse assez volumineuse de grains chromatiques irrégulièrement agglomérés. L'endoplasme plus ou moins vacuolisé peut contenir en dehors des Bactéries, de grosses granulations et des masses irrégulières qui gardent intensément la couleur. Ils correspondent aux corpuscules réfringents visibles à l'état frais et constituent probablement en partie, des inclusions sidérophiles, en partie des fragments nucléaires phagocytés par les Amibes. Ils sont d'ailleurs loin d'être constants chez toutes les Amibes, dont certaines ne renferment ni inclusions, ni enclaves.

Les formes prékystiques montrent des inclusions sidérophiles en nombre variable et de formes différentes, ainsi qu'une vacuole glycogénique. La paroi kystique est mince.

Quoique l'on rencontre fréquemment des Amibes à deux noyaux, on ne voit pas de formes en division et l'on ne peut actuellement rien dire de la caryocinèse.

Les dimensions des Amibes colorées dans des frottis de foie de Serpents, ont de 17μ à 30μ , 6 de long, la moyenne étant de 22μ . Les formes de culture après fixation au Schaudinn ont une moyenne de 25μ , 5 de long,

sur 21 μ de large. Le noyau mesure en moyenne de 3 μ ,5 à 5 μ de diamètre, la moyenne de 3 μ ,5 étant obtenue dans les préparations fixées au Schaudinn. Les kystes mesurent de 12 μ ,75 à 18 μ .

Si l'on analyse les détails de la structure du noyau, on remarque certaines particularités, notamment l'aspect du caryosome dans les préparations fixées au Bouin et l'extrême délicatesse de la chromatine périphérique, qui permettent de distinguer l'*Entamoeba dysenteriae* de l'*Entamoeba* décrite ici.

Dans les cultures, cette dernière se comporte très différemment de l'*Entamoeba histolytica*. Elle se multiplie à la température du laboratoire et l'on a vu des formes végétatives conserver leur mobilité pendant 4 jours à la glacière.

La température optima pour son développement est de 23° à 25° ; une température de 37° est beaucoup moins favorable.

RODHAIN et Van HOFF (51) ont expérimenté cette Amibe sur divers reptiles. D'après leurs travaux, on peut déduire qu'elle occasionne chez les animaux des lésions caractéristiques du tube digestif et des lésions généralisées. Elle provoque une véritable septicémie et on peut la mettre en évidence, soit par culture, soit par examen direct, dans le sang, les reins, le cerveau, la cavité péritonéale, le foie dans lequel elle provoque souvent des abcès.

En 1936, ces mêmes auteurs (52), en faisant des essais *in vitro*, ont montré que l'*Entamoeba invadens* est hématophage, capable de phagocyter et de digérer les hématies nucléées des reptiles et les érythrocytes humains.

Enfin, E. BRUMPT (11) a montré que les Mammifères et même les Chats si sensibles à l'Amibe dysentérique, sont

réfractaires à l'Amibe des Reptiles. Cet auteur a pu infecter expérimentalement la Vipère d'Europe et a songé à utiliser cette Amibe comme moyen de destruction de ces reptiles.

Mode de culture employé.

L'histoire des cultures d'Amibes pathogènes commence réellement en 1924 avec la mémorable découverte de BOECK et DRBOHLAV (6) qui ont préconisé pour cette culture un support solide en couche inclinée et un liquide de couverture salin et albumineux. E. BRUMPT (10) en 1926 a ajouté un aliment figuré pulvérulent, l'amidon de riz stérilisé.

D'après DESCHIENS (14), TANABE et CHIBA (56) le pH de départ doit être situé entre 7,2 et 7,6 ; à pH 8 les cultures sont irrégulières, à pH 8,6 elles sont négatives.

Il y a une phase de fermentation butyrique de l'amidon qui dure 4, 5 ou 7 jours et fait tomber le pH à 6,6, taux favorable au développement des Amibes. Vient ensuite une phase de putréfaction des albumines, avec formation d'acides aminés, puis d'ammoniaque, qui amène un relèvement du pH vers 7 et au delà, et entraîne la dégénérescence et la disparition des Amibes. Cette deuxième phase commence du sixième au dixième jour suivant les milieux.

Nous avons cultivé *Entamoeba invadens* sur sérum de cheval coagulé en présence de RINGER ovomucoïde et d'amidon de riz comme aliment figuré. Les souches étaient repiquées deux fois par semaine et conservées à une température de 20-25°.

Pour préparer le milieu de culture, on procède de la façon suivante :

A un litre de liquide de Ringer contenant quelques billes de verre et stérilisé à 105-110° pendant un quart d'heure, on ajoute un blanc d'œuf en prenant les précautions suivantes : l'œuf aussi frais que possible, est lavé soigneusement au savon, rincé à l'eau distillée, puis à l'alcool à 90°. On le laisse sécher, puis on le casse sur une lame flambée, et on verse le blanc dans le Ringer. On agite et conserve à la glacière après avoir réparti aseptiquement en Erlenmeyers stériles de 250 cc. contenant des billes de verre.

Le milieu est préparé extemporanément au moment d'ensemencer. Pour cela, on verse aseptiquement à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, du Ringer ovomucoïde dans un tube de sérum, de façon à ce que le liquide recouvre environ les trois quarts du plan incliné du sérum. On ajoute à l'aide d'une lame flambée une petite pincée d'amidon de riz stérilisé 3 jours de suite, une demi-heure à 130° au four Pasteur.

On ensemence largement en prélevant à l'aide d'une pipette Pasteur, dans le tube de culture convenablement agité, 1 cc. de liquide que l'on verse aseptiquement dans le tube stérile ainsi préparé.

Les précautions d'asepsie prises dans ces manipulations permettent de ne pas contaminer la culture avec d'autres microorganismes (Bactéries) que ceux dont se nourrit en partie l'Amibe et que l'on entraîne avec elle.

La culture de cette Amibe ne nous a donné aucune difficulté particulière. Au bout de 3 jours à 25°, on

obtient des cultures très luxuriantes qui peuvent être expérimentées.

Nous avons essayé de remplacer l'aliment figuré par divers oses ou polysaccharides, lactose, glucose, lévulose, maltose, dextrine, mélange dextrine et maltose, amidon soluble. Dans tous les cas, nous n'avons pas obtenu de très bons résultats : les Amibes se sont d'abord atrophiées et ont disparu au bout d'un nombre plus ou moins grand de repiquages.

Nous présentons ci-dessous l'aspect morphologique de l'Amibe, d'une part à l'état vivant, d'autre part fixée et colorée à l'hématoxyline ferrique.

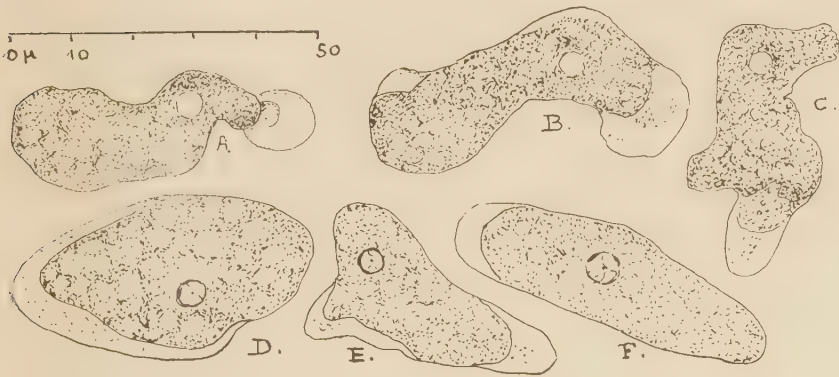


FIGURE 1. — *Entamoeba invadens*
A. B. C., vivante en mouvement.
D. E. F., Fixée à l'Hématoxyline ferrique.

Action du pH sur les Amibes en liquide de Ringer.

a) Préparation de la suspension amibienne.

Ces Amibes se laissent facilement centrifuger et même laver au liquide de Ringer pur, ce qui est très intéres-

sant, comme on le verra plus loin, car le lavage permet de se débarrasser de la plus grande partie de l'albumine qui retarde considérablement l'action de l'émétine.

Mises en suspension dans ce liquide, elles peuvent vivre plus de 48 heures, temps suffisant pour nos expériences.

Toutefois, il ne faut pas exagérer le nombre de ces lavages, car les centrifugations répétés tuent une bonne proportion des Amibes. Pour nos expériences, nous avons opéré surtout sur des Amibes lavées une fois au liquide de Ringer, c'est-à-dire centrifugées deux fois. Au bout de quatre centrifugations, ou quelquefois trois, plus de 50 pour 100 des Protozoaires sont tués et l'observation devient beaucoup plus délicate.

Pour étudier l'action du pH, nous nous sommes pris de la façon suivante : 10 cc. de suspension amibienne dans du Ringer ovomucoïde sont prélevés à la pipette. Après centrifugation, on décante et on lave le culot au liquide de Ringer pur. Après une deuxième centrifugation suivie d'une nouvelle décantation, le culot est émulsionné dans environ 8 cc. de Ringer.

b) *Mode opératoire.*

Nous avons utilisé ici les colorants de CLARK et LUBS. Dans une série de tubes à essais on met 1 cc. 25 de suspension amibienne préparée comme il a été dit précédemment, 1 cc. 25 de Ringer pur et la quantité suffisante de colorant.

Au comparateur de HELIGE on cherche le nombre de gouttes d'acide chlorhydrique ou de soude N/100, N/50, N/10 qu'il faut ajouter à ces mélanges pour obtenir les pH de 2,-2, 5,-3,-3,5...9.

Dans une autre série de tubes, on ajoute à 1 cc. 25 de Ringer pur, les quantités respectivement trouvées d'acide ou de base.

On mélange alors exactement sur une lame avec 2 pipettes Pasteur jumelles sciées à la lime, une goutte de suspension amibienne et une goutte de Ringer destinée à amener le mélange au pH désiré. On recouvre d'une lamelle et on lute au lut à la colophane lanoline de RONDEAU du NOYER. On observe au microscope, objectif 7, oculaire 12, grossissement = 899.

Nous avons constaté qu'à pH 2, les Amibes sont tuées instantanément. De pH 3 à 4, 5, elles peuvent vivre pendant 3 heures, enfin de pH 5 à pH 9, elles vivent plus de 24 heures.

Comportement des Amibes vis-à-vis de l'émétine (mort de l'Amibe).

Sous l'action du chlorhydrate ou d'un autre sel d'émétine, certaines Amibes qui se déplaçaient d'un mouvement de translation assez rapide (mouvement type *limax*), ralentissent leur marche, puis s'arrêtent; elles émettent sur place des pseudopopes qui deviennent de plus en plus rares et pénibles. Assez souvent elles éclatent et le protoplasme est projeté au dehors, ce qui est le signe le plus certain de la mort du Protozoaire. D'autres fois, elles s'arrondissent en un cercle parfait, le protoplasme et les grains d'amidon se condensent au centre, laissant une zone claire à la périphérie.

Enfin, dans d'autres cas, elles gardent une position allongée et immobile. Il faut alors imprimer de petites secousses à la lame. On remarque que les Amibes vraiment mortes

persistent dans leur immobilité, alors que dans ces conditions, celles qui sont simplement au repos, émettent des pseudopodes.

Variation de la toxicité du chlorhydrate d'émétine avec le pH.

La méthode employée est semblable à celle qui nous a permis d'étudier l'action du pH sur les Amibes en liquide de Ringer.

Dans une série de tubes à essais, on met 1 cc. 50 de suspension amibienne, 1 cc. 50 de solution de chlorhydrate d'émétine à 4 pour 100 en base et la quantité suffisante de colorant (échelle de Michaëlis).

Avec une pipette très fine on ajoute de l'acide chlorhydrique ou de la soude en quantité convenable pour obtenir des pH croissants échelonnés de 5 à 7,5.

Nous nous sommes servi de soude et d'acide chlorhydrique en solutions normales ou décinormales employées en très petites gouttes afin d'éviter des dilutions excessives. Nous avons de même opéré à partir d'un pH de 5 pour bien nous assurer que la vitalité de nos Amibes n'est pas altérée par un pH trop bas.

Dans une autre série de tubes à essais contenant chacun 1 cc. 50 de solution de chlorhydrate d'émétine, on ajoute respectivement les quantités d'acide ou de base trouvées antérieurement. Enfin, on mélange sur une lame, une goutte de suspension amibienne et une goutte de solution d'émétine destinée à amener le mélange au pH voulu. On recouvre d'une lamelle que l'on lute.

Le tableau ci-dessous résume les résultats obtenus

avec des Amibes centrifugées et mises en suspension dans du liquide de Ringer.

Toxicité du chlorhydrate d'émétine en fonction du pH.

pH des mélanges Amibes + émétine	5	6,5	7,5
Temps d'action en minutes	68	55	45

Nous constatons ainsi que le chlorhydrate d'émétine agit bien *in vitro* sur les Amibes et que cette action dépend du pH de la solution ; la toxicité croît avec le pH conformément aux observations de J. H. ST-JONH (25) que nous avons rapportées. Notons toutefois que ces Amibes apparaissent assez résistantes puisqu'une concentration à 2 pour 100 en base est nécessaire pour les tuer en une heure environ.

Variation de la toxicité avec la température.

Pour étudier cette variation, il suffit de porter à différentes températures un mélange de suspension amibienne et de solution d'émétine, maintenu entre lame et lamelle lutée.

Nous avons constaté que dans les limites physiologiques, l'action de l'émétine croît avec l'augmentation de la température.

Une concentration à 2 pour 100 en chlorhydrate d'émétine nous a donné les résultats suivants, résumés dans le tableau ci-après.

**Toxicité du chlorhydrate d'émétine
en fonction de la température.**

Températures	10°	25°	37°
Temps d'action en minutes	65	30	12

Influence de l'acide qui salifie l'émétine.

a) Essais en rayons ultra-violets.

Les travaux de G. VALETTE et de son élève ROLLE (59) ont apporté une contribution importante à la question de savoir de quelle manière l'alcaloïde se fixe sur la cellule.

En 1935, G. VALETTE (58) a étudié les modalités de fixation de la quinine chez les Protozoaires, par l'examen microscopique de la fluorescence obtenue au moyen de solutions sulfuriques de cet alcaloïde.

En observant à l'aide du microscope à fluorescence de Reichert, des Paramécies (*P. Caudatum*) placées entre lame et lamelle dans une solution de sulfate de quinine, il constata au bout d'un temps très court l'apparition de plages lumineuses circulant à l'intérieur du Protozoaire et augmentant d'intensité jusqu'à se détacher en bleu intense sur le fond obscur de la préparation. Or, ces sphères lumineuses n'étant autres que les vacuoles digestives, l'auteur conclut à une fixation élective de la quinine sur le vacuome, où se produit une condensation de l'alcaloïde. Il put alors comparer ce phénomène avec celui qui a lieu dans le cas de la fixation du rouge neutre sur la cellule du Protozoaire, la substance étran-

gère se localisant dans les deux cas au niveau des mêmes inclusions protoplasmiques.

Avec ROLLÉ, G. VALETTE (55) a repris la même étude sur *Amoeba dubia*. Là encore, la quinine se fixe au niveau du vacuome, mais aussi au niveau de certaines inclusions protoplasmiques autres que les vacuoles.

Ces observations sont à rapprocher de celles de JANCZO (24) effectuées sur les Trypanosomes avec certains dérivés de l'acridine.

En outre, la pénétration de la quinine dans le protoplasme d'*Amoeba dubia*, et l'action toxique de cet alcaloïde sont influencées de manières diverses par les substances douées d'une action cytolytique. Tandis que la saponine et le ricinoléate de sodium retardent la pénétration de l'alcaloïde, et par suite, l'intoxication des Amibes, le cholate de sodium accélère cette pénétration au sein du Protozoaire et augmente l'action toxique.

La lécithine et le sérum sanguin exercent également une action antitoxique vis-à-vis de la quinine par suite du retard qu'ils apportent à la pénétration de l'alcaloïde à l'intérieur de l'Amibe.

L'émétine étant elle-même fluorescente aux rayons ultra-violet, il nous a paru intéressant de tenter des essais similaires, en nous servant du même appareillage.

Malheureusement, nos Amibes ont présenté naturellement une fluorescence blanc-grisâtre aux rayons ultra-violet, semblable à celle de l'émétine.

Nous avons bien remarqué cependant sous l'action de l'alcaloïde, une augmentation de la fluorescence propre aux Amibes.

Mais si mesurer le temps d'apparition d'une fluores-

cence est chose aisée, en apprécier l'augmentation à un moment précis est une opération fort délicate.

Nous avons dû renoncer à cette méthode qui, dans *ce cas particulier*, n'aurait pu nous fournir de données quantitatives, et nous avons étudié la toxicité de nos sels *in vitro* en fonction de la concentration et du temps d'action.

Nous avons opéré sur des Amibes centrifugées une fois et mises en suspension dans du liquide de Ringer pur ; sur des Amibes lavées une fois au Ringer, enfin sur des Amibes lavées deux fois, c'est-à-dire soumises à trois centrifugations.

La rapidité d'action de l'émétine croît avec le nombre de lavages. Ainsi, une concentration en base de 1,80 pour 100 de chlorhydrate, tue les Amibes non lavées en 90 minutes ; il faut 1,15 pour 100 environ pour tuer les Amibes lavées une fois dans le même temps, et une concentration de 0,50 pour 100 environ pour les Amibes lavées deux fois.

Nous n'avons pas pu, à proprement parler, établir une dose seuil d'émétine, dire par exemple qu'une solution à 2 pour 100 en base, d'un sel quelconque tue toutes les Amibes en 30 minutes. Cette durée varie avec les cultures ; ceci, probablement à cause des débris divers en proportions variables, présents dans l'émulsion amibienne et dont on est incapable de se débarrasser par la centrifugation. Peut-être aussi à cause de variations dans la résistance des différentes cultures.

Nous insistons donc sur le fait qu'une série d'expériences avec les différents sels doit être effectuée sur une même culture.

Les expériences faites sur des Amibes prélevées dans

des tubes de culture différents, ne permettent pas de comparer les sels entre eux.

Nous avons, de même, opéré avec des sels d'émétine dissous dans du liquide de Ringer et non dans de l'eau distillée, pour être bien sûr que la modification du milieu n'a pas plus d'influence sur nos Amibes que l'émétine elle-même.

b) *Mode opératoire.*

On prélève à la pipette le contenu d'un tube de culture qui équivaut environ à 10 cc. On centrifuge ; le culot est lavé ou non au liquide de Ringer, et finalement, mis en suspension dans 3 cc. environ de ce liquide. A l'aide de 2 pipettes Pasteur jumelles sciées à la lime, on verse sur une lame une goutte de solution d'émétine, d'une concentration double de celle que l'on veut finalement obtenir. On y ajoute une goutte de suspension amibienne.

Après avoir mélangé exactement, on recouvre d'une lamelle que l'on lute ; on note le temps d'arrêt de 100 pour 100 des Amibes.

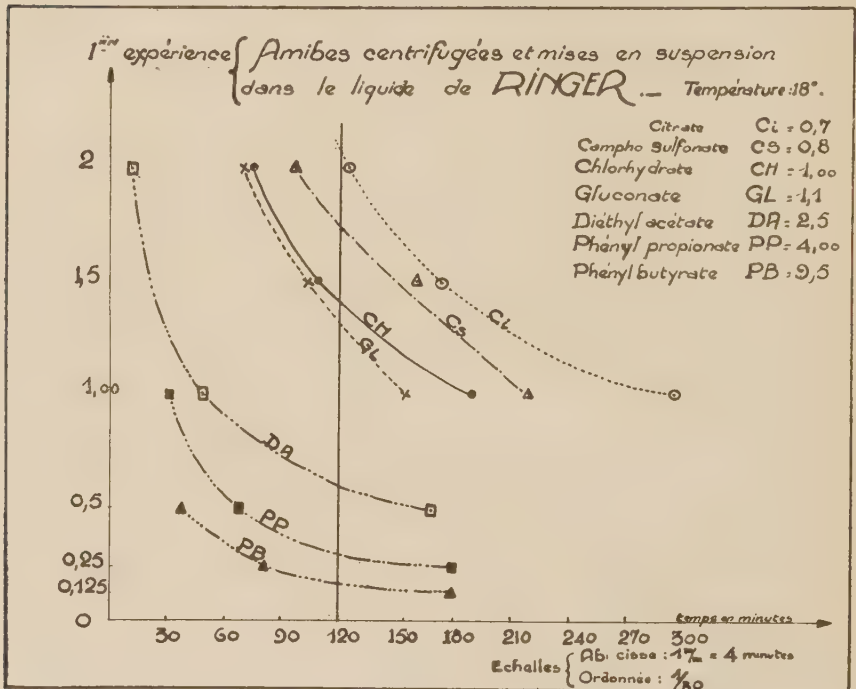
Il est indispensable de verser la goutte de suspension amibienne dans la goutte d'émétine, car nous avons remarqué au cours de nos essais qu'en faisant le contraire, le mélange est souvent imparfait et il arrive que sur les bords de la lamelle lutée on aperçoive quelquefois un petit nombre d'Amibes vivantes, alors que celles du centre sont mortes.

Nous rappelons que lorsque nous parlons d'une concentration déterminée (par exemple, chlorhydrate d'émétine à 2 pour 100), il s'agit toujours d'une concentration en émétine base. Car, pour se rendre compte de l'in-

fluence de l'acide, il est indispensable que les Protozoaires étudiés soient mis en présence de quantités équivalentes en alcaloïde.

Les tableaux que nous présentons ci-après, donnent pour chaque sel, les résultats obtenus pour trois expériences effectuées à 3 concentrations différentes.

Les expériences que nous donnons ici, sont des essais



En ordonnées : concentration en base pour cent.

COURBE 1.

types effectués avec des cultures de résistance normale. Mais nous avons eu l'occasion d'observer des cultures extrêmement résistantes, sur lesquelles une solution de chlorhydrate d'émétine à 2 pour 100 en base a agi en

1^{re} Expérience :

Amibes centrifugées et mises en suspension dans le liquide de Ringer.

(Température 18°).

Sels d'émétine	Concentration en base p. 100	pH	Moyenne des temps en minutes pour obtenir le stade léthal de 100 p. 100 des Amibes	Valeur des paramètres	Temps calculés
Citrate	2	6,5	124	a = 0,30	124
	1,50	6,8	175		175
	1	6,8	295	b = 210	300
Camphosulfonate	2	6,6	96	a = 0,37	100
	1,50	6,8	162		143
	1	7	220	b = 168	248
Chlorhydrate	2	6,6	75	a = 0,34	76
	1,50	6,8	110		110
	1	7	192	b = 127	192
Gluconate.....	2	7	69	a = 0,21	70
	1,50	7	106		97
	1	7,2	154	b = 125	158
Diéthylacétate.....	2	7,2	13	a = 0,32	18
	1	7,2	50		45
	0,50	7,2	169	b = 31	172
Phénylpropionate ...	1	7	32	a = 0,08	32
	0,50	7,2	68		71
	0,25	7,2	180	b = 30	176
Phénylbutyrate.....	0,50	7,2	38	a = 0,02	39
	0,25	7,4	82		83
	0,125	7,4	180	b = 19	181

2^e Expérience :
Amibes lavées une fois.
(Température 18°).

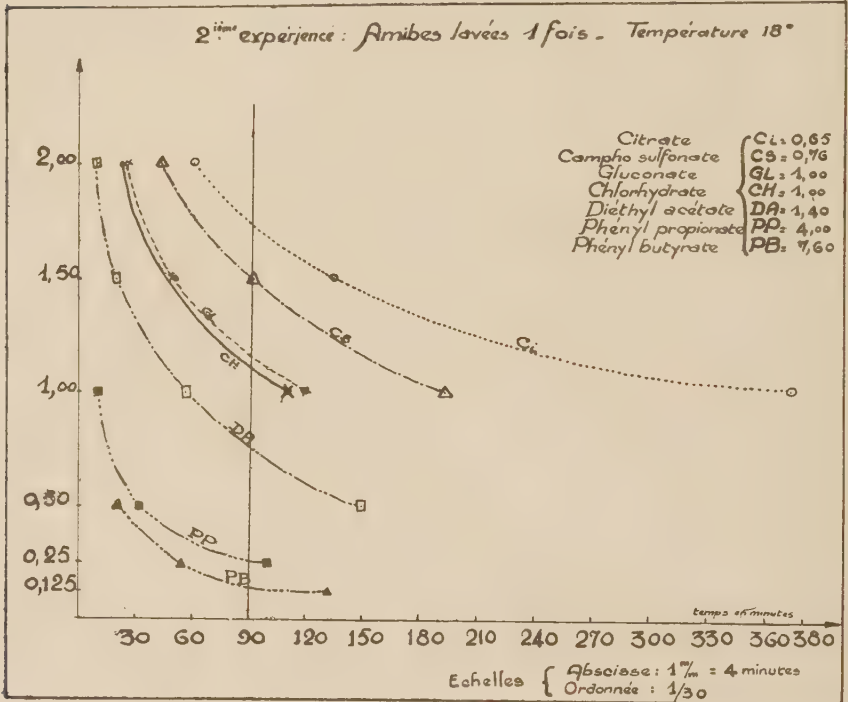
Sels d'émétine	Concentration en base pour 100	pH	Moyenne des temps en minutes pour obtenir le stade léthal de 100 p. 100 des Amibes	Valeur des paramètres	Temps calculés
Citrate	2	6,4	60	a = 0,78	71
	1,50	6,6	134		120
	1	6,8	373	b = 86,4	393
Camphosulfonate	2	6,6	43	a = 0,73	49
	1,50	6,8	92		82
	1	7	203	b = 62,7	232
Gluconate.....	2	7	23	a = 0,64	28
	1,50	7	50		45
	1	7,2	110	b = 38,8	108
Chlorhydrate	2	6,8	25	a = 0,68	29
	1,50	7	48		47
	1	7	120	b = 38,6	120
Diéthylacétate.....	2	7,2	10	a = 0,38	13
	1,50	7,2	18		19
	1	7,2	57		35
	0,50	7,4	150	b = 21,8	182
Phénylpropionate ...	1	7	12	a = 0,15	12
	0,50	7	33		30
	0,25	7,2	99	b = 10,4	104
Phénylbutyrate.....	0,50	7,2	22	a = 0,04	26
	0,25	7,2	55		57
	0,125	7,4	132	b = 12	141

3^e Expérience :
Amibes lavées deux fois.
(Température 18°).

Sels d'émétine	Concentration en base pour cent	pH	Moyenne des temps en minutes pour obtenir le stade léthal de 100 p. 100 des Amibes	Valeur des paramètres	Temps calculés
Citrate	2	6,6	60	a = 0,5	59
	1,50	6,8	88		88
	1	6,8	177	b = 88,5	177
Camphosulfonate	2	6,8	17	a = 0,26	20
	1,50	6,8	32		29
	1	7	45	b = 35,6	48
Gluconate.....	2	7	10	a = 0,41	13
	1,50	7	22		20
	1	7,2	40	b = 21,6	37
Chlorhydrate	2	6,8	12		13
	1,50	7	20	a = 0,26	19
	1	7	32	b = 23	30
	0,50	7	90		89
Diéthylacétate.....	2	7,2	6	a = 0,38	4
	1	7,2	10		10
	0,50	7,2	55	b = 6,6	55
Phénylpropionate ...	1	7	7	a = 0,15	7
	0,50	7	15		16
	0,25	7	60	b = 57	57
Phénylbutyrate.....	0,50	7,2	12	a = 0,038	14
	0,25	7,2	32		31
	0,125	7,2	87	b = 6,6	77

6 heures, une solution de citrate à 2 pour 100 n'a pas agi en 24 heures.

Quelle que soit cette durée d'action, l'ordre de toxicité des sels qui nous intéresse est toujours resté le même et s'apparente tout à fait avec celui que J. RÉGNIER et ses



En ordonnées : concentration en base pour cent.

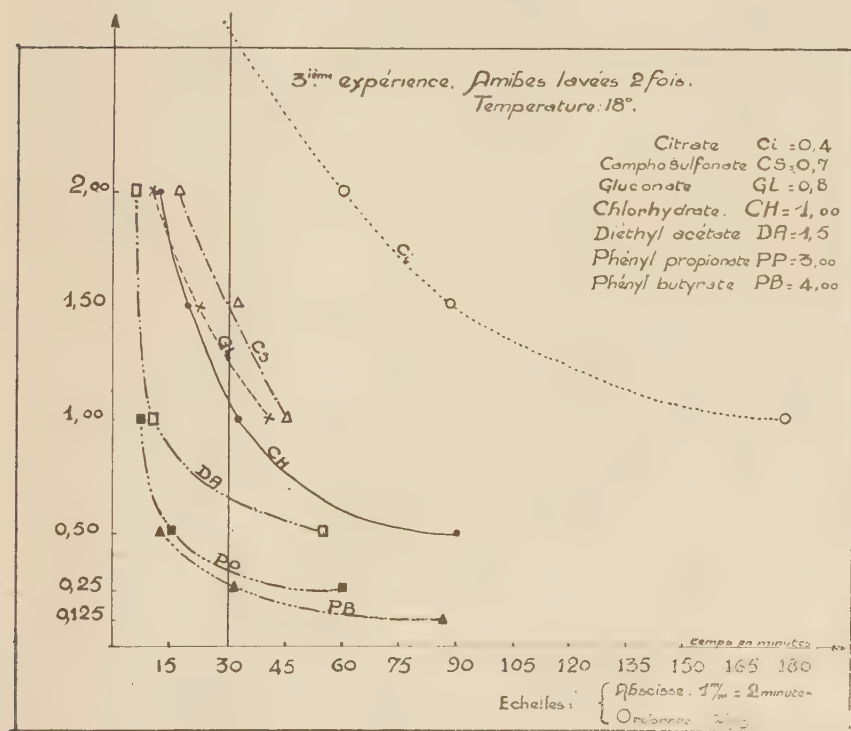
COURBE 2.

collaborateurs ont mis en évidence, en particulier avec les bases anesthésiques locales.

Nous voyons en effet que l'activité croît dans le sens : citrate < camphosulfonate < gluconate < chlorhydrate < diéthylacétate < phénylpropionate < phénylbutyrate.

Les courbes que nous pouvons tracer à partir des

résultats moyens, en portant en abscisses les temps en minutes, et en ordonnées les concentrations en base, permettent de constater que le processus d'intoxication obéit à une loi hyperbolique pour tous les sels.



Cette loi est de la forme $C = a + \frac{b}{t}$ ou C est la concentration et t le temps, les valeurs des paramètres a et b variant évidemment avec le sel expérimenté. Nous présentons dans nos tableaux, à côté des chiffres expérimentaux, les chiffres calculés en appliquant cette formule. Les paramètres ont été déterminés à partir de chaque

courbe. Aux erreurs d'expérience près, on voit que, en général, la concordance est satisfaisante.

Si nous prenons comme repères, la toxicité au bout de 120 minutes pour les Amibes non lavées, au bout de 90 minutes pour les Amibes lavées une fois, au bout de 30 minutes pour les Amibes lavées deux fois, nous obtenons pour les différents sels, les valeurs relatives suivantes :

a) *Amibes non lavées :*

Citrate	= Ci	= 0,7
Camphosulfonate	= CS	= 0,8
Chlorhydrate	= CH	= 1
Gluconate.....	= GL	= 1,1
Diéthylacétate.....	= DA	= 2,5
Phénylpropionate	= PP	= 4
Phénylbutyrate.....	= PB	= 9,5

b) *Amibes lavées une fois :*

Citrate	= Ci	= 0,65
Camphosulfonate	= CS	= 0,76
Gluconate.....	= GL	= 1
Chlorhydrate	= CH	= 1
Diéthylacétate.....	= DA	= 1,4
Phénylpropionate	= PP	= 4
Phénylbutyrate.....	= PB	= 7,6

c) *Amibes lavées deux fois :*

Citrate	= Ci	= 0,4
Camphosulfonate	= CS	= 0,7
Gluconate.....	= GL	= 0,8
Chlorhydrate	= CH	= 1
Diéthylacétate.....	= DA	= 1,5
Phénylpropionate	= PP	= 3
Phénylbutyrate.....	= PB	= 4

L'action du pH ne peut être invoquée, puisque, comme l'indiquent nos chiffres les valeurs de la concentration en

ions H^+ du mélange suspension d'Amibes, sels d'émétine, sont très peu variables.

Les différences d'action assez considérables constatées, sont donc bien dues à l'acide qui salifie l'alcaloïde.

Remarquons en outre que les sels gardent leur différence d'activité même en présence de liquide de Ringer, liquide qui contient, comme on le sait, des sels alcalins d'acides forts. Tout se passe donc comme si les chlorures ne déplaçaient pas les acides faibles de nos sels.

CHAPITRE IV

Action des sels d'émétine sur des Infusoires ciliés : *Paramecium caudatum*-Ehrenberg et *Glaucoma scintillans*-Ehrenberg.

Nous venons de voir que la toxicité de l'émétine pour un Rhizopode est manifeste, bien que relativement faible ; elle est nettement influencée par l'acide qui salifie l'alcaloïde.

En est-il de même avec les Infusoires, Protozoaires pour lesquels la membrane limitante présente une solution de continuité avec le cytostome et le cytopharynx ?

Nous avons expérimenté sur deux infusoires ciliés : *Paramecium caudatum*-Ehrenberg et *Glaucoma scintillans*-Ehrenberg, que nous avons isolés selon le mode opératoire que nous allons décrire.

Essais sur *Paramecium caudatum*-Ehrenberg.

Les eaux des mares, les infusions et macérations de débris végétaux, contiennent un grand nombre d'Infusoires d'espèces variées.

Leur culture est simple : on la pratique habituellement sur infusion de foin ou dans de l'eau de mare, riche en matières nutritives. Il est nécessaire de stériliser

préalablement ces différents liquides à l'autoclave si l'on veut obtenir une culture pure.

Un peu d'eau prélevée dans les bassins de la Faculté de Pharmacie et contenant des feuilles mortes et débris végétaux divers a été conservée à 25°. Au bout de 8 jours, nous avons obtenu un mélange de Protistes (Glaucoma, Paramécies, Vorticelles, Rotifères, Phytoflagellés, etc). Dans une goutte de ce mélange très dilué, placée sous le microscope, nous avons isolé avec une micropipette quelques Paramécies, qui ont été ensemencées en infusion de foin stérilisée avec les Bactéries entraînées et qui sont nécessaires à leur nutrition. En quatre jours la culture s'est révélée assez dense pour permettre l'expérimentation.

Nous n'avons pas suivi de règles spéciales pour la préparation de cette infusion. Une poignée de foin infusée dans deux litres d'eau nous a donné de très bons résultats.

Nous avons également cultivé les Paramécies en infusion de feuilles mortes stérilisée, ou encore dans de l'eau ordinaire contenant quelques grains de blé écrasés.

Au début de nos expériences, nous avons adopté un pH alcalin de 7,5 à 8,5 comme le recommande L. MOREA (33). Mais par la suite, nous nous sommes rendus compte qu'une légère acidité et même un pH de 6 n'était pas nuisible à l'évolution d'une culture pure de Paramécies.

IDENTIFICATION.

Pour examiner ces infusoires dans le but de les identifier et d'en faire le dessin, plusieurs méthodes ont été employées sur le conseil de M. RONDEAU DU NOYER : il

est d'abord indispensable de les tuer, car les mouvements de translation, des cils, des membranelles sont trop rapides.

1^o La solution officinale de formol permet déjà un bon examen. Une goutte mélangée sur une lame avec quelques gouttes de culture, permet à l'état frais, sous lamelle, d'avoir une idée sur la disposition des cils et la morphologie générale ;

2^o Pour l'étude de la structure interne, nous nous sommes adressé à la technique suivante :

Après fixation par le formol pendant douze heures, dans un tube (9 parties de culture pour une partie de formol), on centrifuge et on décante. Le culot est lavé à l'eau et on colore par 1 cc. d'hémalun 20 minutes. Après un nouveau lavage par centrifugation on déshydrate avec de l'alcool à 90°, puis de l'alcool absolu, puis du toluène. On examine alors dans du baume ou du terpinéol entre lame et lamelle ;

3^o Pour étudier la morphologie externe (cils et membranelles), on centrifuge 5 cc. de culture environ, additionnée d'une ou deux gouttes de formol du Codex. On prélève à la pipette un peu du culot que l'on mélange sur une lame avec une solution de nigrosine au 1/15°. On étale avec la pipette et non avec une lamelle, pour éviter d'écraser les infusoires. On sèche avec un éventail aussi vite que possible. La nigrosine se loge entre les cils et donne une image très nette.

Quand la préparation est séchée, on monte au baume ou au terpinéol. Les cils apparaissent en clair sur fond noir.

L'examen par ces différentes méthodes nous a permis

d'identifier cet infusoire que nous définissons ainsi :

Paramecium caudatum-Ehrenberg : Protozaire cilié de l'ordre des Holotriches, caractérisé par un corps couvert entièrement ou presque de cils.

Famille des Paramecidae caractérisée par un cytosome toujours ouvert relativement grand, avec membranelles dans le cytopharynx.

Cette Paramécie présente une bouche précédée d'un long péristome oblique en entonnoir, suivi d'un cytopharynx dont le bord dorsal porte une membrane ondulante. Il possède un seul micronucleus à côté du macronucleus qui est ellipsoïdal, 3 fois plus long que large, il mesure 20 μ environ.

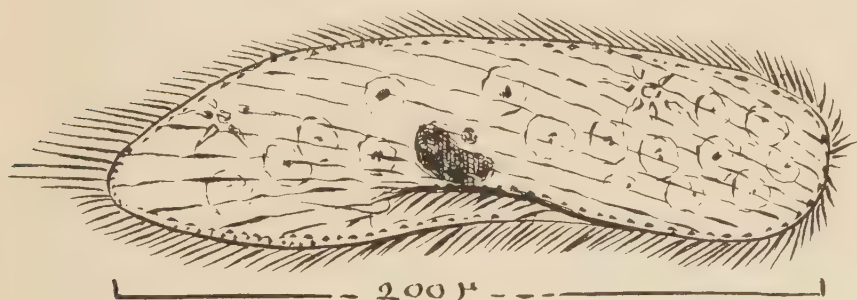


FIGURE 2. — *Paramecium caudatum*.

Les Infusoires se sont montrés beaucoup plus faciles à travailler que les Amibes.

En effet, leur plus grande vitalité, et la quantité bien plus importante de culture que l'on peut mettre en œuvre, nous ont permis d'opérer en tubes à hémolyse, et de suivre les stades d'intoxication en prélevant à des temps déterminés une goutte du mélange culture-solution d'émétine.

Observés sous un grossissement plus faible (objectif 3, oculaire 3, grossissement 90) qui permet d'explorer un champ plus large, leur plus grande mobilité facilite la détermination du stade d'intoxication qui contraste mieux que dans le cas des Amibes.

Action du pH sur les Paramécies.

A 2 cc.50 de culture d'Infusoires contenus dans divers tubes à essais, on ajoute une quantité suffisante de colorant (CLARK et LUBS) et l'on cherche au comparateur de Hellige, le nombre de gouttes d'acide chlorhydrique ou de soude N/100, N/50, N/10 qu'il faut ajouter à ces différents tubes pour obtenir des pH croissants échelonnés de 2 à 9.

Les quantités trouvées sont respectivement ajoutées à des tubes contenant le même volume de culture, sans colorant bien entendu.

Une goutte prélevée à la pipette toutes les 5 ou 10 minutes dans chacun de ces tubes et examinée au microscope, permet de se rendre compte de l'action du pH en fonction du temps.

De nos expériences, il résulte que les Paramécies sont immédiatement fixées et tuées à pH 2,8 ; à pH 3,5 elles vivent de 5 à 10 minutes et supportent parfaitement bien un pH 4,4.

Dans la zone alcaline, elles vivent normalement jusqu'à pH 9, elles peuvent durer un quart d'heure à pH 9,6 et sont immédiatement fixées et tuées à pH supérieur.

Comportement des Paramécies vis-à-vis de l'émétine.

Quand l'intoxication commence, les Infusoires qui se déplaçaient d'un mouvement rapide et régulier, présen-

tent des mouvements désordonnés, tournent sur eux-mêmes, puis se fixent ; il apparaît des boules sarcodiques aux extrémités ou tout le long du corps ; les cils et membranelles continuent de battre.

On dit qu'il y a mort, quand l'Infusoire éclate ou présente un stade d'immobilité complète au microscope. Il prend alors une forme uniformément arrondie et obscure, ou bien conserve une forme allongée ; le protoplasme se condense au centre ou sur les côtés en une masse sombre entourée d'une zone beaucoup plus claire. Plus rarement, il y a contraction de tout l'animal qui forme une masse noire ou sombre.

*Variation de la toxicité du chlorhydrate d'émétine
avec le pH.*

La méthode employée est la même que pour les Amibes, excepté qu'à la fin de l'opération, au lieu de mélanger sur une lame une goutte de suspension amibienne avec une goutte de solution de chlorhydrate d'émétine additionnée de la quantité nécessaire d'acide ou de base, nous avons mis en présence dans des tubes à hémolyse 1 cc. de culture et 1 cc. de solution émétinique, destinée à nous donner les divers pH.

Après mélange intime des deux solutions avec une pipette, on observe de temps en temps au microscope une goutte de ces différents mélanges.

Nous avons remarqué ici encore que le temps d'action de l'émétine est moindre en milieu alcalin qu'en milieu acide.

En opérant avec une concentration en émétine de 0,25 pour 100, nous avons obtenu les résultats suivants :

Toxicité du chlorhydrate d'émétine en fonction du pH.

pH	5	6	7,2
Temps d'action en minutes	35	32	25

*Variation de la toxicité du chlorhydrate d'émétine
avec la température.*

On porte à différentes températures 3 tubes à hémolyse contenant un mélange à parties égales de culture d'Infusoires et d'une solution de chlorhydrate d'émétine à 0,50 pour 100. Il découle de ces expériences que la toxicité croît avec la température, comme le met en évidence le tableau ci-dessous.

Toxicité du chlorhydrate d'émétine en fonction de la température.

Température	14°	25°	37°
Temps d'action en minutes	38	27	10

Influence de l'acide qui salifie l'émétine.

MODE OPÉRATOIRE.

Dans un tube à hémolyse, on met 1 cc. de culture d'Infusoires, 1 cc. de solution de sel d'émétine d'une concentration double de celle que l'on veut finalement obtenir, et on mélange exactement avec une pipette.

Toutes les 5, 10 ou même toutes les 20 minutes, sui-

vant la toxicité présumée du sel étudié, on prélève une goutte de liquide que l'on examine au microscope.

On note le moment précis où la dernière goutte prélevée, ne contient aucun Protozoaire vivant.

Nous avons fait 3 expériences pour chaque sel à différentes concentrations. Il ressort de nos observations, que la toxicité croît avec cette concentration et varie avec les différentes cultures ; les raisons sont, sans doute, les mêmes que pour les Amibes.

Les tableaux qui suivent résument les essais que nous avons effectués sur *Paramecium caudatum*, cultivé en infusion de foin ou en infusion de feuilles mortes, et traité par des solutions d'émétine dans l'eau distillée ou le liquide de Ringer. Ceci à seule fin de vérifier si, comme dans le cas des Amibes, les variations d'activité des sels d'acides organiques faibles s'observent même en présence de chlorures.

1^{re} Expérience :

Paramecium caudatum cultivé en infusion de foin.

Expériences effectuées à 18° avec des sels d'émétine dissous dans de l'eau distillée.

Sels d'émétine	Concentration en base pour 100	pH	Moyenne des temps en minutes pour obtenir le stade léthal de 100 p. 100 des Paramécies	Valeur des paramètres	Temps calculés
Citrate	2	6,8	9	a = 0,11	9
	1	6,9	22		19
	0,50	6,9	38	b = 16,5	42
Camphosulfonate	0,50	6,6	9	a = 0,035	14
	0,25	6,6	38		31
	0,125	6,6	70	b = 6,7	75
Chlorhydrate	0,50	7,2	11	a = 0,038	13
	0,25	7,2	33		29
	0,125	7,2	70	b = 6,2	72
Gluconate.....	0,50	6,8	10	a = 0,042	13
	0,25	6,8	33		29
	0,125	6,8	73	b = 6,1	73
Diéthylacétate.....	0,50	6,8	6	a = 0,07	6
	0,25	6,8	14		14
	0,125	6,8	45	b = 0,5	46
Phénylpropionate ...	0,25	6,6	6	a = 0,04	9
	0,125	6,6	23		23
	0,062	6,6	98	b = 1,98	91
Phénylbutyrate.....	0,25	7	5	a = 0,05	5
	0,125	7,2	11		13
	0,062	7,2	90	b = 1	83

2^e Expérience :

Paramecium caudatum cultivé en infusion de feuilles mortes.

Expériences effectuées à 18° avec des sels d'émétine
dissous dans de l'eau distillée.

Sels d'émétine	Concentration en base pour 100	pH	Moyenne des temps en minutes pour obtenir le stade léthal de 100 p. 100 des Paramécies	Valeur des paramètres	Temps calculés
Citrate	2	6,1	11	a = 0,39	12
	1	6,1	35		33
	0,50	6,1	179	b = 20	130
Gluconate.....	0,50	6,2	20	a = 0,05	20
	0,25	6,2	48		46
	0,125	6,2	129	b = 9,15	123
Chlorhydrate	0,50	6,6	10	a = 0,075	14
	0,25	6,6	46		35
	0,125	6,8	121	b = 6,1	122
Camphosulfonate	0,50	5,8	11	a = 0,07	13
	0,25	5,8	45		33
	0,125	5,9	104	b = 5,92	108
Phénylpropionate ...	0,50	5,6	5	a = 0,091	6
	0,25	5,8	17		17
	0,125	5,8	77	b = 2,64	78
Diéthylacétate.....	0,25	6,2	16	a = 0,042	17
	0,125	6,2	69		44
	0,062	6,4	127	b = 3,63	180
Phénylbutyrate.....	0,25	6,6	6	a = 0,052	7
	0,125	6,6	55		20
	0,062	6,6	103	b = 1,48	148

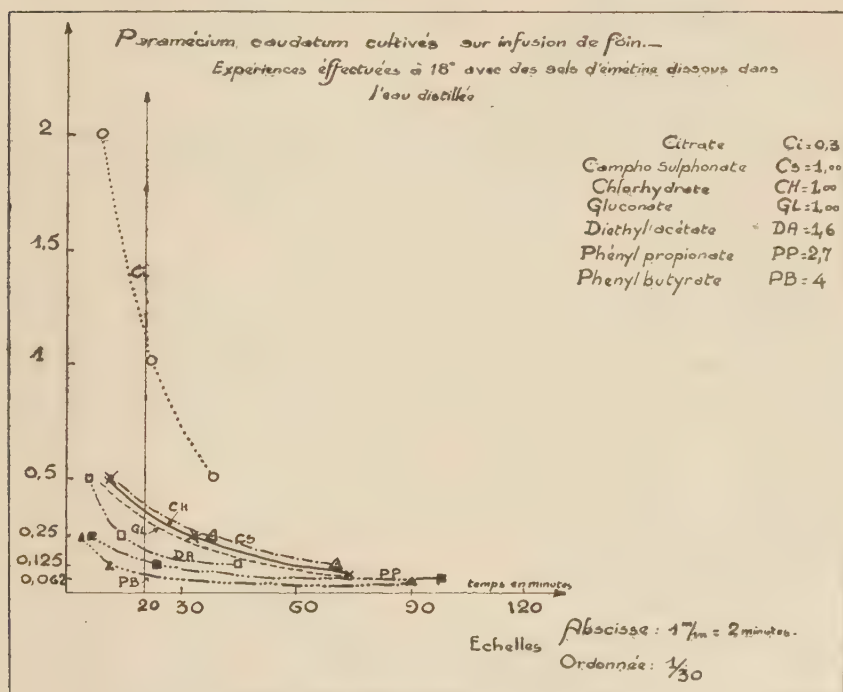
3^e Expérience :

Paramecium caudatum cultivé en infusion de foin.

Expériences effectuées à 18° avec des sels d'émétine
dissous dans du liquide de Ringer.

Sels d'émétine	Concentration en base pour 100	pH	Moyenne des temps en minutes pour obtenir le stade léthal de 100 p. 100 des Paramécies	Valeur des Paramètres	Temps calculés
Citrate	2	6	19	a = 0,87	23
	1,50	6	53		42
	1	6,2	183	b = 26,3	204
Gluconate.....	1	7	13	a = 0,178	18
	0,50	7	72		47
	0,25	7	178	b = 15,11	208
Camphosulfonate	1	6	8	a = 0,195	10
	0,50	6,2	47		28
	0,25	6,2	129	b = 8,43	153
Chlorhydrate	1	6,4	7	a = 0,175	11
	0,50	6,4	41		29
	0,25	6,6	123	b = 9,47	125
Diéthylacétate.....	0,50	6,8	7	a = 0,09	10
	0,25	6,8	35		27
	0,125	7	107	b = 4,3	123
Phénylpropionate ...	0,25	6,8	8	a = 0,047	11
	0,125	7	37		30
	0,062	7,1	139	b = 2,31	154
Phénylbutyrate.....	0,25	7	4	a = 0,052	6
	0,125	7,2	32		18
	0,062	7,2	108	b = 1,28	126

Nous constatons là encore une nette différence d'action entre les sels selon une série qui s'apparente tout à fait à celle que nous avons observée avec les Amibes.



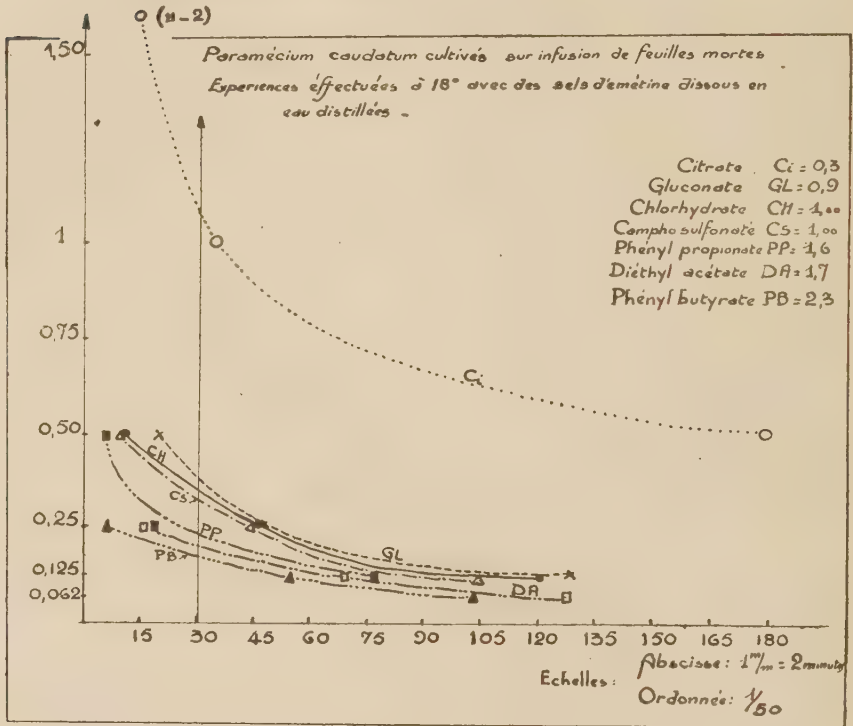
En ordonnées : Concentration en base pour cent.

COURBE 4.

Les courbes que nous pouvons tracer à l'aide des chiffres moyens obtenus, en comparant les concentrations nécessaires pour obtenir le stade d'intoxication, en 20 minutes pour les Paramécies cultivées sur foin et expérimentées avec des sels d'émétine dissous en eau distillée, en 30 minutes pour les Paramécies cultivées en infusion de feuilles mortes et pour celles expérimentées en liquide de Ringer, nous donnent les résultats suivants :

a) *Paramécies cultivées sur foin (Eau distillée).*

Citrate	= Ci	= 0,3
Camphosulfonate	= CS	= 1
Chlorhydrate	= CH	= 1
Gluconate	= GL	= 1
Diéthylacétate	= DA	= 1,6
Phénylpropionate	= PP	= 2,7
Phénylbutyrate	= PB	= 4



En ordonnées : concentration en base pour cent.

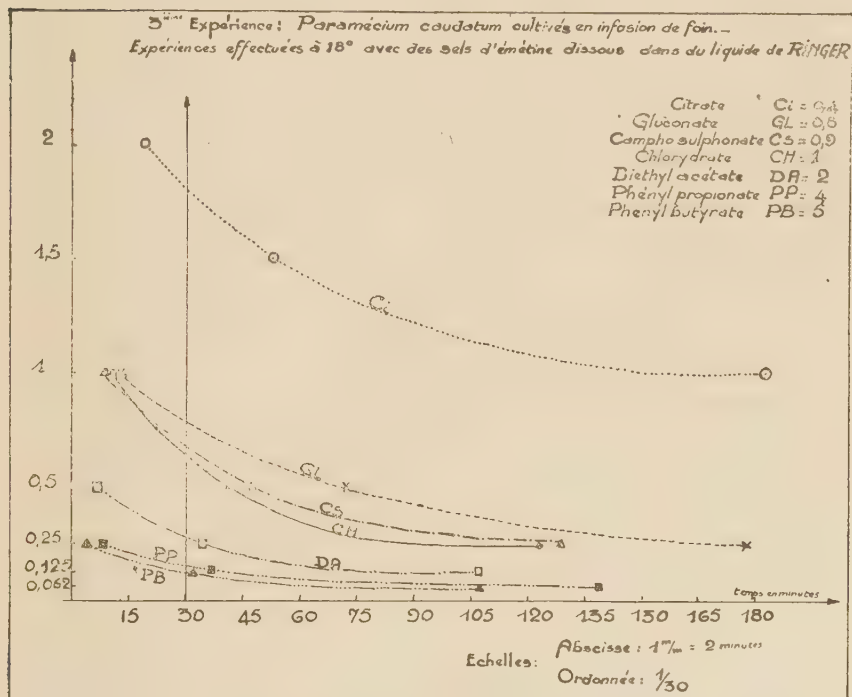
COURBE 5.

b) *Paramécies cultivées sur feuilles mortes (Eau distillée).*

Citrate	= Ci	= 0,3
Gluconate	= GL	= 0,9
Chlorhydrate	= CH	= 1
Camphosulfonate	= CS	= 1
Phénylpropionate	= PP	= 1,6
Diéthylacétate	= DA	= 1,7
Phénylbutyrate	= PB	= 2,3

c) *Paramécies* (foin-Ringer).

Citrate	= Ci	= 0,4
Gluconate	= GL	= 0,8
Camphosulfonate	= CS	= 0,9
Chlorhydrate	= CH	= 1
Diéthylacétate	= DA	= 2
Phénylpropionate	= PP	= 4
Phénylbutyrate	= PB	= 5



En ordonnées : concentration en base pour cent

COURBE 6.

Les différents pH des mélanges n'expliquent pas les variations observées et nous constatons que la présence de liquide de Ringer ne gêne en rien l'activité des sels.

De plus, la loi d'intoxication est encore de la forme hyperbolique $c = a + \frac{b}{t}$ et nous présentons dans nos

tableaux les valeurs des paramètres a et b ainsi que les temps calculés. La concordance est ici encore satisfaisante.

Essais sur *Glaucoma scintillans*-Ehrenger.

Nous avons obtenu des *Glaucoma* en suspendant à la surface d'un litre d'eau de fontaine une branche de cresson et quelques grains de blé écrasés, contenus dans un nouet de gaze. Au bout de 6 jours environ, on obtient une culture de *Glaucoma*, mélangés généralement à quelques autres Protistes qui ne nuisent pas à l'observation expérimentale, vue la différence de morphologie.

Cette culture peut se repiquer indéfiniment sur un milieu nutritif stérilisé quelconque (infusion de foin ou de feuilles mortes).

Si l'on veut d'une culture uniprotiste, il suffit d'isoler à la micropipette un ou plusieurs individus que l'on porte sur milieux stériles. Nous avons obtenu de bonnes cultures à un pH de 5,5-6,0.

IDENTIFICATION.

Nous avons employé une méthode identique à celle qui nous a servi à identifier les Paramécies, c'est-à-dire, examen du Protozoaire après fixation par le formol, pour avoir une idée de la morphologie générale ; coloration à l'hémalum, pour examen de la structure interne et par la nigrosine pour la morphologie externe. De notre étude nous avons déduit ce qui suit :

Glaucoma scintillans-Ehrenberg.

Sous-règne des Protozoaires.

Embranchement des ciliés.

Ordre des Holotriches.

Famille des Chiliferidae, caractérisée par un péristome petit dans la partie antérieure du corps ; cytostome toujours ouvert avec membranelles pharyngiennes ; pas de trychocistes.

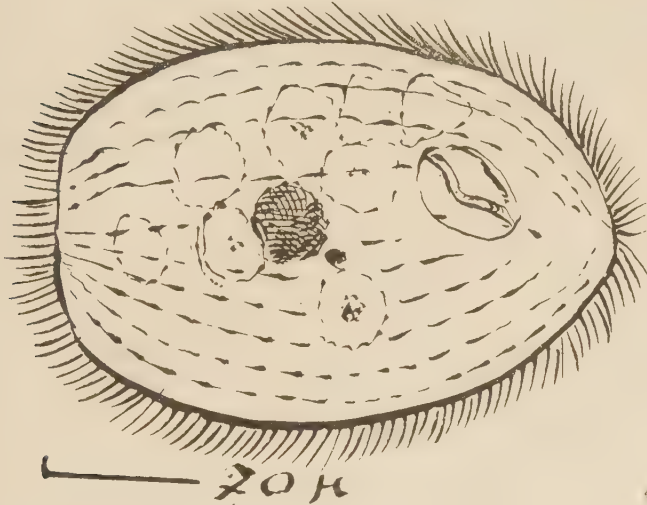


FIGURE 3. — *Glaucoma scintillans*.

D'une façon générale, nous avons employé la même méthode de travail pour les *Glaucoma* que pour les *Paramécies*.

Nous nous dispenserons donc de répéter les différentes techniques et nous mentionnerons seulement ici les résultats obtenus.

Action du pH sur les Glaucoma.

Ils vivent plus de 24 heures entre pH 4 et pH 8,4 et sont tués immédiatement à pH 2.

Comportement des Glaucoma vis-à-vis de l'émétine.

Les signes d'intoxication observés sont les mêmes que pour les Paramécies : mouvements désordonnés d'abord, puis en tourbillon, puis ralentis. Apparition de boules sarcodiques en nombre qui varie de un à quatre ; enfin, fixation et immobilité complète dans la forme arrondie ou allongée. Nous avons choisi comme test de mortalité le moment où l'animal paraît totalement immobile, au microscope (objectif 3, oculaire 3, grossissement 90).

Variation de la toxicité du chlorhydrate d'émétine avec le pH.

L'action toxique croît avec le pH. Le tableau qui suit, résume les résultats obtenus avec une solution à 1 pour 100 en chlorhydrate d'émétine.

Toxicité du chlorhydrate d'émétine en fonction du pH.

pH	5	6	7,5
Temps d'action	30'	28'	22'

Variation de la toxicité avec la température.

Expériences faites avec une concentration de 1 pour 100 en chlorhydrate d'émétine.

Variation de la toxicité avec la température.

Température	10	18	37
Temps d'action	45'	25'	10'

Influence de l'acide qui salifie l'émétine.

Alors que les Paramécies sont très sensibles à l'émétine, ainsi que le reconnaissent les auteurs qui ont étudié la question, nous nous sommes trouvés en présence de cultures très résistantes de Glaucoma.

Les tableaux et courbes qui suivent mettent en évidence les résultats obtenus.

1^{re} Expérience :

Souche A. — *Glaucoma* cultivé sur foin.

Expérimenté à 12° avec des sels d'émétine dissous en eau distillée.

Sels d'émétine	Concentration en base pour 100	pH	Moyenne des temps en minutes pour obtenir le stade léthal de 100 p. 100 des <i>Glaucoma</i>	Valeur des paramètres	Temps calculés
Citrate	2	6,8	121	a = 0,72	141
	1,50	6,8	274		232
	1	6,8	616	b = 181	645
Gluconate.....	2	6,4	94	a = 0,74	80
	1,50	6,4	144		133
	1	6,4	369	b = 100	382
Camphosulfonate	2	6,4	53	a = 0,775	61
	1,50	6,4	129		104
	1	6,4	306	b = 75,2	334
Chlorhydrate	2	7	37	a = 0,82	42
	1,50	7	102		74
	1	7	253	b = 50,1	278
Diéthylacétate*.....	2	6,6	12	a = 136	10
	1	6,6	117		115
	0,50	6,6	230	b = 1350	266
Phénylpropionate ...	1	6,4	16	a = 0,15	20
	0,50	6,4	55		50
	0,25	6,4	180	b = 17,5	175
Phénylbutyrate.....	0,50	7	14	a = 0,10	18
	0,25	7	53		49
	0,125	7	287	b = 7,5	282

*La formule $c = a + \frac{b}{t}$ ne s'applique pas dans ce cas avec le diéthylacétate ;
les chiffres calculés ont été obtenus en employant la formule $c = \frac{a}{t} + \frac{b}{t^2}$
où a et b ont les valeurs indiquées.

2^e Expérience :

Souche A. — *Glaucoma* cultivé sur foin.

Expérimenté à 25° avec des sels d'émétine dissous en eau distillée.

Sels d'émétine	Concentration en base pour 100	pH	Moyenne des temps en minutes pour obtenir le stade léthal de 100 p. 100 des Glaucoma	Valeur des paramètres	Temps calculés
Citrate	2	6,8	23	a = 0,83	29
	1,50	6,8	69		51
	1	6,8	182	b = 34,2	200
Gluconate.....	2	6,4	15	a = 0,845	17
	1,50	6,4	40		31
	1	6,4	128	b = 20,40	130
Camphosulfonate	2	6,4	6	a = 0,87	9
	1,50	6,4	29		17
	1	6,4	75	b = 10,7	82
Chlorhydrate	2	7	7	a = 0,83	9
	1,50	7	23		17
	1	7	65	b = 10,5	62
Diéthylacétate.....	1	6,6	8	a = 0,15	9
	0,75	6,6	21		29
	0,50	6,6	57	b = 17,5	50
	0,25	6,6	134		175
Phénylpropionate ...	1	6,4	4	a = 0,195	4
	0,50	6,4	12		12
	0,25	6,4	69	b = 3,8	68
Phénylbutyrate.....	0,50	7	6	a = 0,083	9
	0,25	7	33		24
	0,125	7	83	b = 3,95	94

3^e Expérience.

Souche B. — *Glaucoma* cultivé en eau commune.

Expérimenté à 25° avec des sels d'émétine dissous en eau distillée.

Sels d'émétine	Concentration en base pour 100	pH	Moyenne des temps en minutes pour obtenir le stade léthal de 100 p. 100 des Glaucoma	Valeur des paramètres	Temps calculés
Citrate	2	5,6	121	a = 0,23	158
	1,50	5,6	247		220
	1	5,6	395	b = 300	380
Gluconate.....	2	5,2	78	a = 0,72	91
	1,50	5,2	190		149
	1	5,2	387	b = 116	415
Camphosulfonate	2	5,2	50	a = 0,52	58
	1,50	5,2	95		89
	1	5,2	182	b = 86,5	180
Chlorhydrate	2	5,8	24	a = 0,765	31
	1,50	5,8	75		53
	1	5,8	161	b = 38,8	165
Diéthylacétate.....	2	5,4	4	a = 0,435	4
	1	5,4	14		12
	0,50	5,4	103	b = 7	107
Phénylpropionate ...	1	5,4	6		9
	0,50	5,4	23	a = 0,063	20
	0,25	5,4	54	b = 8,82	47
	0,125	5,4	128		142
Phénylbutyrate.....	0,50	5,8	10		12
	0,25	5,8	35	a = 0,0346	29
	0,125	5,8	77	b = 6,28	70
	0,062	5,8	208		228

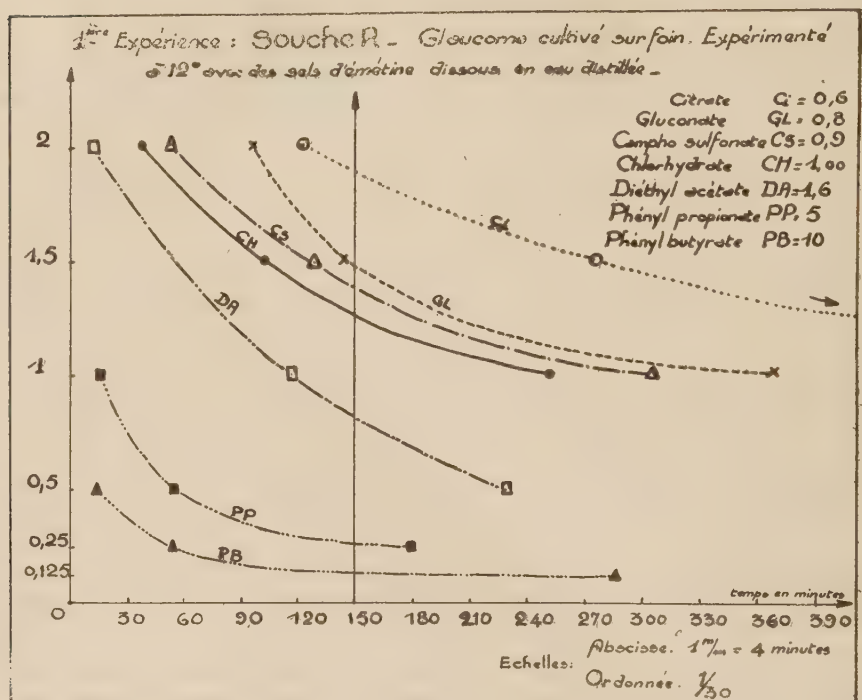
4^e Expérience :

Glaucoma cultivé en eau commune.

Expérimenté en Ringer à 25°.

Sels d'émétine	Concentration en base pour cent	pH	Moyenne des temps en minutes pour obtenir le stade léthal de 100 p. 100 des Glaucoma	Valeur des paramètres	Temps calculés
Citrate	2	6,2	88	a = 0,66	97
	1,50	6,2	186		155
	1	6,4	342	b = 130	382
Camphosulfonate	2	6,4	34	a = 0,86	40
	1,50	6,6	119		72
	1	6,6	287	b = 46	328
Gluconate.....	2	7	25	a = 0,60	39
	1,50	7,2	66		61
	1	7,2	139	b = 55	137
Chlorhydrate	2	6,5	22	a = 0,788	25
	1,50	6,6	58		49
	1	6,8	136	b = 31	148
Diéthylacétate.....	1	7	12	a = 0,15	13
	0,50	7,1	33		33
	0,25	7,4	115	b = 11,5	115
Phénylpropionate ...	1	7	7	a = 0,07	10
	0,50	7	23		22
	0,25	7,2	56	b = 9,5	53
	0,125	7,2	173		176
Phénylbutyrate.....	0,50	7,2	17	a = 0,065	15
	0,25	7,2	36		35
	0,125	7,4	101	b = 6,5	109

Les résultats numériques de nos tableaux permettent de tracer des courbes concentration-action, qui nous amènent aux mêmes conclusions que pour les Paramécies. La loi $c = a + \frac{b}{t}$ s'applique encore avec une ap-

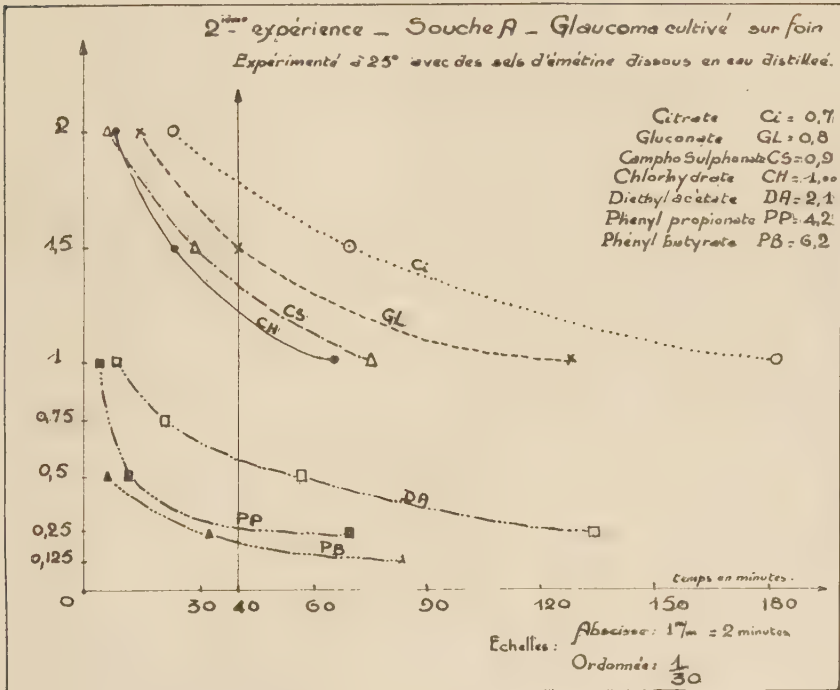


En ordonnées : concentration en base pour cent.

COURBE 7.

proximation satisfaisante, exception faite, toutefois, pour le diéthylacétate, avec les Glaucoma cultivés sur foin et expérimentés à 12°. Comme nous l'avons noté, en bas du tableau, nous avons dû appliquer dans ce cas la formule $c = \frac{a}{t} + \frac{b}{t^2}$ pour calculer des chiffres voisins des résultats expérimentaux. Mais en général, c'est la première loi qui s'applique.

Les deux premières courbes qui expriment des expériences effectuées à des températures nettement différentes et sur infusion de foin, mettent bien en évidence



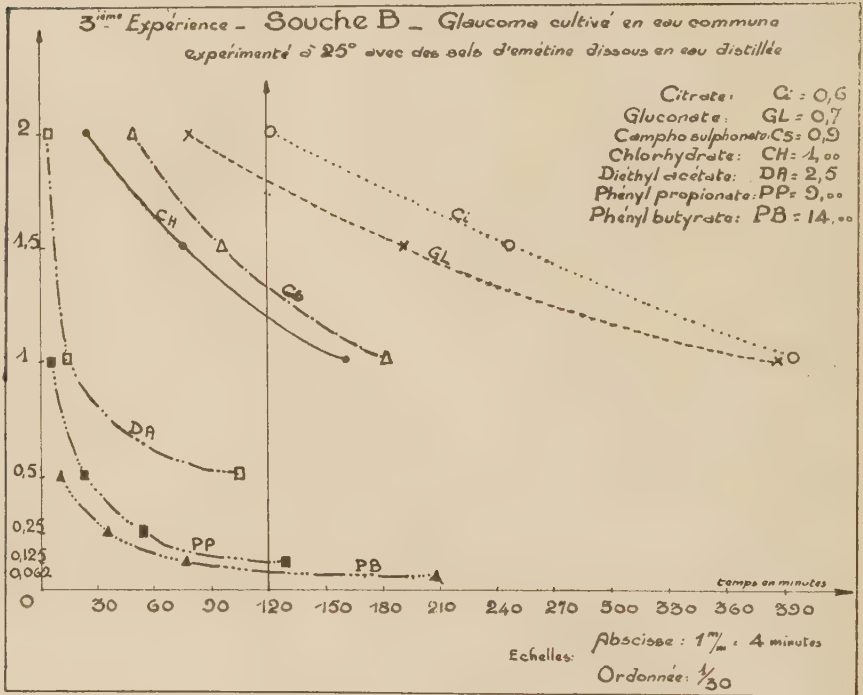
En ordonnées : concentration en base pour cent.

COURBE 8.

l'influence du facteur température. Elles permettent le classement suivant :

Glaucoma cultivé sur foin (Emétine en eau distillée)	12°	25°
Citrate.....	Ci = 0,6	Ci = 0,7
Gluconate.....	GL = 0,8	GL = 0,8
Camphosulfonate.....	Cs = 0,9	CS = 0,9
Chlorhydrate.....	CH = 1	CH = 1
Diéthylacétate.....	DA = 1,6	DA = 2,1
Phénylpropionate.....	PP = 5	PP = 4,2
Phénylbutyrate.....	PB = 10	PB = 6,2

La troisième expérience exprime les résultats obtenus avec des Glaucoma cultivés en eau commune et la quatrième, les résultats obtenus avec des solutions émétiques faites en liquide de Ringer.



En ordonnées : concentration en base pour cent.

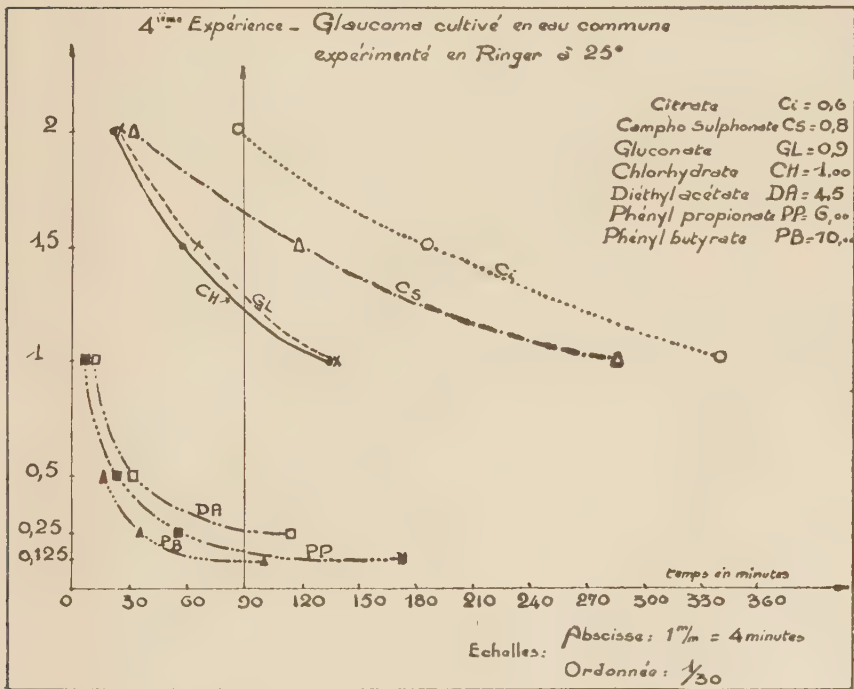
COURBE 9.

3^e expérience : Glaucoma cultivé en eau commune :

Citrate	= Ci	= 0,6
Gluconate	= GL	= 0,7
Camphosulfonate	= CS	= 0,9
Chlorhydrate	= CH	= 1
Diéthylacétate	= DA	= 2,5
Phénylpropionate	= PP	= 9
Phénylbutyrate	= PB	= 14

4^e expérience : Glaucoma cultivé en eau commune
Ringer :

Citrate	= Ci =	0,6
Camphosulfonate	= CS =	0,8
Gluconate	= GL =	0,9
Chlorhydrate	= CH =	1
Diéthylacétate	= DA =	4,5
Phénylpropionate	= PP =	6
Phénylbutyrate	= PB =	10



En ordonnées : Concentration en base pour cent.

COURBE 10.

Nous voyons donc, qu'aux erreurs d'expérience près, les résultats quantitatifs sont sensiblement les mêmes.

En conclusion, les essais que nous avons effectués sur deux Infusoires confirment, en plus de la sensibilité par-

ticulière de ces animaux à l'émétine, les faits que nous avons observés avec les Amibes.

L'action de l'émétine dépend de l'acide qui la salifie. Le citrate, le gluconate, le camphosulfonate, ont en général une activité moindre ou égale à celle du chlorhydrate.

Sont plus actifs et dans l'ordre : le diéthylacétate, le phénylpropionate, le phénylbutyrate, ce dernier sel pouvant être 10 fois plus fort que le chlorhydrate.

Ces différences d'action ne peuvent s'expliquer par le pH des mélanges ; là encore, la présence de chlorures ne gêne pas l'influence favorable ou défavorable de l'acide plus faible.

CHAPITRE V

Action des sels d'émétine sur la cellule végétale.

Euglena gracilis-Klebs.

Euglena gracilis est un monadophyte très mobile à un seul flagelle, qui a été bien étudié par ZUMSTEIN (63) et dont le pouvoir de synthèse en culture bactériologiquement pure à la lumière et à l'obscurité, a fait l'objet des recherches de LWOFF (31).

Le problème que nous nous posions n'exigeait pas, comme précédemment, d'opérer en milieu exempt de germes, autre que l'Archéphyte dont nous voulions nous servir de test pharmacodynamique.

Il nous suffisait d'opérer sur une culture simplement unialgale permettant des recherches comparatives.

Nous avons cultivé *Euglena gracilis* sur le milieu qui a permis depuis plusieurs années à M. LEFÈVRE (30) la culture clonique unialgale de nombreuses Desmidiées.

Voici la formule de ce milieu dans sa forme actuelle :

Eau bidistillée.....	1.000 gr.
NO ₃ K	0,200 gr.
PO ₄ K ₂ H	0,040 gr.
SO ₄ Mg	0,030 gr.
(NO ₃) ₂ Ca	0,040 gr.
Cl ₃ Fe (Codex)	1 goutte
Peptone Chapoteaut	0,175 gr.
Extrait de terre	10 cc.
Extrait de Sphagnum	5 cc.

Les différents sels et la peptone étant dissous dans l'eau, on stérilise à 100-105° pendant 5 à 10 minutes.

Pour préparer l'extrait de terre, on pèse 30 gr. de terre de jardin dans un ballon de 1 litre et on recouvre aux 3/4 d'eau. On porte à l'ébullition 1/2 heure. On filtre, stérilise à 100-105° pendant 5 à 10 minutes.

L'extrait de Sphagnum se prépare de façon analogue. Un ballon de 1 litre est à moitié rempli de Sphaignes que l'on recouvre d'eau distillée. On fait bouillir 1/2 heure. On filtre et stérilise comme précédemment.

On introduit les quantités requises d'extrait de terre et de Sphagnum aseptiquement à l'aide de pipettes stériles.

La stérilisation des milieux ne doit pas être poussée trop loin, afin d'éviter des louches par inter-réaction des constituants. Toutefois, si le milieu présente un très léger dépôt de phosphates, cela n'a aucun inconvénient et il vaut mieux le laisser tel quel.

Les précautions bactériologiques sont prises, non pas pour éviter les Bactéries toujours présentes puisqu'entraînées avec les Euglènes, mais pour éliminer les Algues vertes minuscules (Chlorelles, Protococcales, etc.) qui se trouvent toujours dans l'eau ou dans l'air et qui résistent à la dessiccation en température normale.

Nos cultures unialgales ont été effectuées à 23° à la lumière artificielle (lampe de 40 W placée à 25 cm. environ) dans des Erlenmeyers de 30 cm³ contenant 250 cm³ de milieu. Au bout de quelques jours, après départ des cultures, nous les avons conservées à la température du laboratoire (18°) en lumière naturelle. On peut repiquer tous les mois.

Après examen par les différentes méthodes qui nous

ont servi à identifier les Infusoires, nous reproduisons ici le dessin de l'Euglène que nous définissons comme suit :

Euglena gracilis.

Sous-règne des Archéphytes,

Embranchement des Flagellés,

Classe des Phytoflagellés, caractérisée par la présence de chromatophores (autotrophes).

Ordre des Euglénienens, caractérisé par un corps déformable par déplacement du cytoplasme dans l'enveloppe mince et élastique du corps, mais il n'y a ni contraction de cette enveloppe, ni émission de pseudopodes. Présence d'un cytopharynx. Formation de pyrénoides qui sont des cristalloïdes incolores entourés de granules de Paramylon (isomère des amidons, non colorable en bleu par l'iode).

Famille des Euglenidae, présentant des chromatophores et ordinairement des stigma (taches de pigments rouges sensibles à la lumière).

On remarque :

a) la présence de *chloroplastes* (Ch.) répartis sur tout le corps ;

b) un *cytostome* sur la paroi duquel se trouve le stigma (Sti) de coloration rouge ;

c) un *flagellum* (Fl) qui s'insère sur un blépharoplaste situé au voisinage de ce stigma ;

d) un *pyrénotide* (Py) entouré de grains de Paramylon ;

e) le *noyau* (N) qui est situé dans la région postérieure du corps. Longueur de 50 μ à 55 μ .

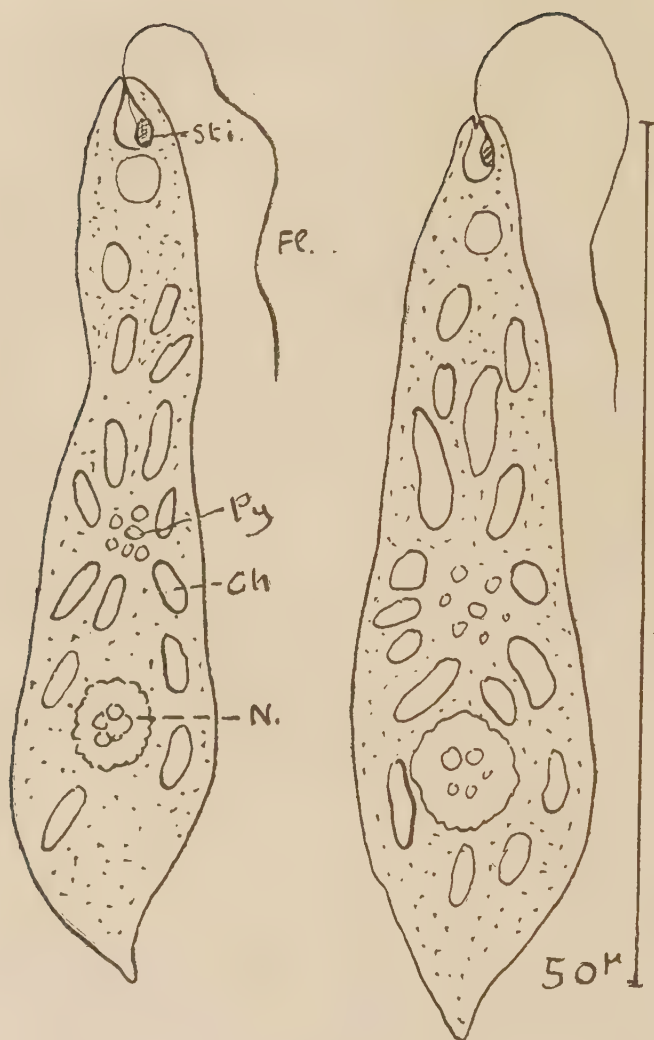


FIGURE 4. — *Euglena gracilis*.

Action du pH sur les Euglènes.

Pour étudier l'influence du pH du milieu sur la vitalité des Euglènes, nous avons, par une série d'essais à blanc,

cherché la quantité de soude ou d'acide chlorhydrique qu'il faut ajouter à un mélange à parties égales d'algues et d'eau distillée en présence du colorant convenable (échelle de Michaëlis).

Dans un deuxième temps, nous avons ajouté les quantités d'acide ou de base trouvées à 5 cc. d'eau distillée, puis ajouté 5 cc. de culture.

En prélevant une goutte du mélange que nous examinons sous lamelle à l'oculaire 3 et à l'objectif 5 (grossissement 375), nous suivions la vitalité de nos Phytoflagellés en fonction du pH et du temps.

Nous avons constaté que les Euglènes sont fixées presque immédiatement à pH 2 et à pH 3; à pH 4, elles gardent leur mobilité plusieurs heures, mais les mouvements sont ralentis. De pH 5 à pH 9 elles vivent comme le témoin.

Comportement des Euglènes vis-à-vis de l'émétine.

Aux mouvements de translation assez rapides, succède un ralentissement considérable, puis une fixation de l'Archéphyte. Il se contracte et s'allonge alternativement, prenant souvent une forme en bouteille caractéristique.

Enfin, la cellule morte prend une forme arrondie, allongée ou en bouteille. Il est à remarquer que, même dans le cas d'une concentration en chlorhydrate d'émétine à 3 pour 100 insuffisante pour tuer en plusieurs heures les Euglènes, il y a fixation dans les 10 minutes, de l'Archéphyte, qui continue à bouger sur place.

Influence de l'acide qui salifie l'émétine.

Le mode opératoire a été le même que celui utilisé avec les Infusoires, à savoir, mise en présence dans un tube à hémolyse, d'un volume déterminé de culture, avec le même volume de solution émétinique de concentration convenable.

Nous présentons ci-dessous, les tableaux résumant les

1^{re} Expérience :

Euglena gracilis effectuée en eau distillée.

Sels d'émétine	Concentration en base pour 100	pH	Moyenne des temps en minutes pour obtenir le stade léthal de 100 p. 100 des Euglènes	Valeur des paramètres	Temps calculés
Camphosulfonate	3	5,8	> 24 h.		
Citrate	3	5,8	> 24 h.		
Gluconate.....	3	5,6	> 24 h.		
Chlorhydrate	3	6,2	> 24 h.		
Diéthylacétate.....	1,50	5,6	2	a = 0,35	3
	1	5,6	8		6
	0,50	5,7	21	b = 3,62	25
Phénylpropionate ...	1	5,8	2	a = 0,15	2
	0,50	5,8	4		4
	0,25	5,8	12	b = 1,3	13
Phénylbutyrate.....	0,50	6	2	a = 0,12	2
	0,25	6	6		7
	0,125	6	> 7 h.	b = 0,9	190

essais que nous avons effectués en traitant les Euglènes par des solutions de sels d'émétine dans l'eau distillée ou dans le liquide de Ringer.

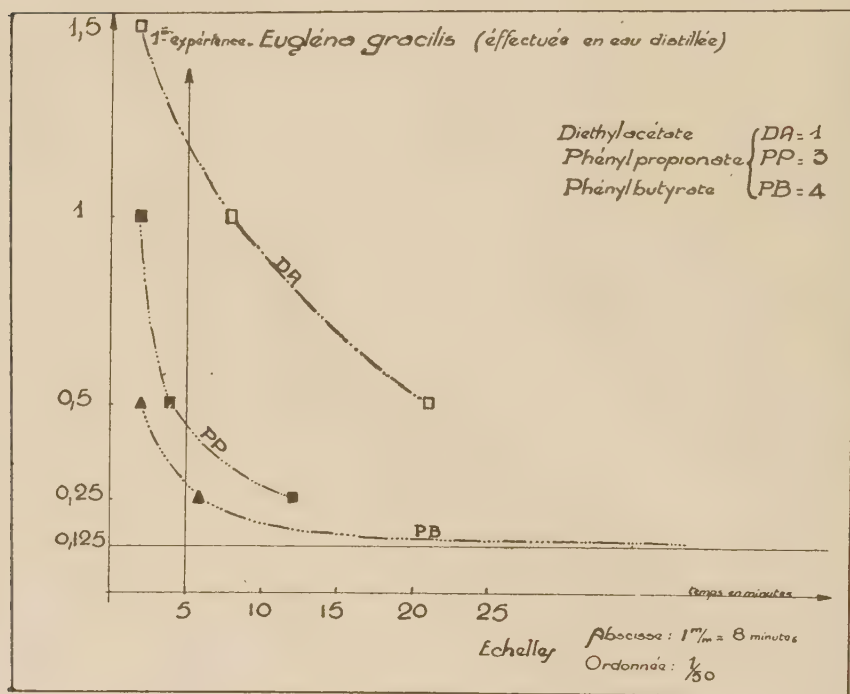
2^e Expérience :

Euglena gracilis (effectuée en Ringer).

Sels d'émétine	Concentration en base pour 100	pH	Moyenne des temps en minutes pour obtenir le stade léthal de 100 p. 100 des Euglènes	Valeur des paramètres	Temps calculés
Citrate	3	6	> 24 h.		
Gluconate.....	3	6,8	> 24 h.		
Camphosulfonate	3	6	> 24 h.		
Chlorhydrate	3	6,4	> 24 h.		
Diéthylacétate.....	1,50	6,5	3	a = 0,32	4
	1	6,6	10		8
	0,50	6,6	27	b = 5,2	29
Phénylpropionate ...	1	6,8	2	a = 0,15	3
	0,50	6,8	7		7
	0,25	7	26	b = 2,6	26
Phénylbutyrate.....	0,50	7	2	a = 0,112	2
	0,25	7,2	5		6
	0,125	7,2	62	b = 8	62

Nous constatons ainsi que la cellule végétale est bien plus résistante à l'émétine que la cellule animale, à tel point que s'il est possible de bien mettre en évidence les

différences d'action entre les sels à acide favorable (diéthylacétate, phénylpropionate, phénylbutyrate), la solubilité des autres sels ne nous a pas permis d'arriver à la dose toxique même en prolongeant l'observation pendant 7 heures et même 24 heures, et aussi en poursuivant l'expérience à 37°.



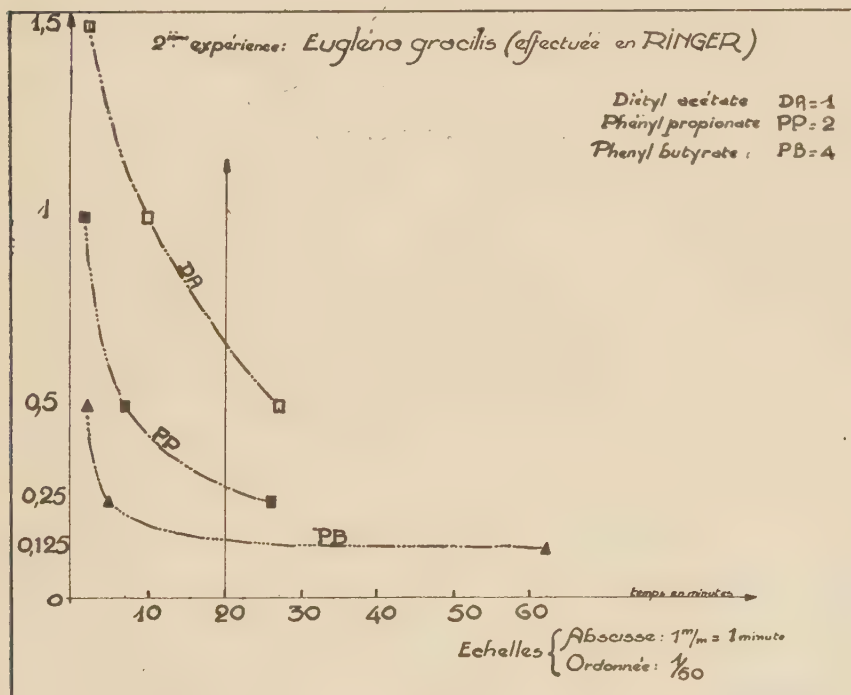
En ordonnées : Concentration en base pour cent.

COURBE 11.

Ce phénomène s'explique aisément puisque la dose de 3 pour 100 en base est sans doute inférieure à l'asymptote parallèle aux abscisses de la courbe hyperbolique.

Les courbes que nous présentons ne se rapportent donc qu'aux trois sels pour lesquels nous avons pu déterminer

des concentrations toxiques, étant bien entendu que nous nommons stade d'intoxication, celui pour lequel aucune Euglène d'une goutte qui en contient habituellement une vingtaine, n'est vivante.



En ordonnées: Concentration en base pour cent.

COURBE 12.

Rappelons, en effet, que tous les sels agissent, puisque même pour les sels à acide défavorable, on observe un ralentissement dans les mouvements des Euglènes.

La concordance des chiffres trouvés et des chiffres calculés par la formule $c = a + \frac{b}{t}$ est excellente comme on peut le voir dans nos tableaux.

En prenant le diéthylacétate pour unité, on obtient les rapports suivants :

1^{re} expérience : Culture A — (en eau distillée)

Diéthylacétate.....	= DA = 1
Phénylpropionate	= PP = 3
Phénylbutyrate.....	= PB = 4

2^e expérience : Culture B — (en Ringer)

Diéthylacétate.....	= DA = 1
Phénylpropionate	= PP = 2
Phénylbutyrate.....	= PB = 4

On peut donc conclure de ces essais, que si la cellule végétale présente une résistance particulière à l'émétine, l'action de cet alcaloïde n'en est pas moins influencée par l'acide qui le salifie et ceci dans le même sens que nos recherches sur la cellule animale le laissaient prévoir.

CONCLUSIONS

Nos recherches ont été effectuées en vue d'apporter une nouvelle contribution aux faits que J. RÉGNIER et ses collaborateurs ont mis pour la première fois en évidence sur les différences d'action des sels d'alcaloïdes.

Cet auteur a en effet montré avec les bases anesthésiques locales, la morphine, l'atropine, etc... que l'activité pharmacodynamique des alcaloïdes varie d'une façon parfois considérable avec l'acide qui les salifie.

Récemment, son élève A. QUEVAUVILLER (35) a communiqué des résultats similaires avec la quinine. En général, les sels s'ordonnent de la façon suivante :

En premier lieu viennent les sels d'acides organiques aliphatiques ou aromatiques, porteurs ou non d'une chaîne grasse, d'activité pharmacodynamique plus intense ; en second lieu, certains sels comme le chlorhydrate, d'activité moyenne ; en troisième lieu, les sels d'acides organiques porteurs de fonctions alcooliques ou acides.

Nous avons voulu voir si ces différences d'action se manifestent également avec un autre alcaloïde, l'émétine.

Après avoir passé en revue les données bibliographiques concernant l'action pharmacodynamique de cet alcaloïde, nous avons conclu que des recherches effectuées sur les Protozoaires *in vitro*, pouvaient constituer

des essais significatifs de son activité pharmacodynamique principale.

Nous avons, pour effectuer ces recherches, préparé des solutions titrées en base, de citrate, camphosulfonate, gluconate, chlorhydrate, diéthylacétate, phénylpropionate, phénylbutyrate d'émétine, en eau distillée et en liquide de Ringer, de façon à pouvoir les expérimenter sur les Protozoaires.

Pour cela nous nous sommes adressé :

1^o A une Amibe, *Entamoeba invadens*-Rodhain, pathogène pour les serpents, dont la morphologie est voisine de celle de l'Amibe dysentérique, et dont la culture et l'observation sont aisées, puisqu'elles peuvent s'effectuer à la température du laboratoire.

Nous avons cultivé cette Amibe sur sérum de cheval coagulé, en position inclinée, recouvert de Ringer ovomucoïde, additionné d'une pincée d'amidon de riz stérilisé. Elle se laisse facilement centrifuger et laver au liquide de Ringer pur, ce qui nous a permis de nous débarrasser d'une grande partie de l'albumine, qui retarde l'action de l'émétine, soit en fixant une certaine proportion d'alcaloïde, soit tout simplement en augmentant la viscosité du milieu.

Nous avons constaté sur ce Rhizopode, que l'action de l'émétine est influencée par le nombre de lavages que l'on fait subir à l'Amibe, par le pH du milieu, par la température, et par la concentration suivant une loi hyperbolique, de la forme $c = a + \frac{b}{t}$.

Si l'on prend le chlorhydrate comme unité, on obtient les résultats suivants, avec des sels d'émétine dissous dans du liquide de Ringer :

Sels d'émétine	Amibes non lavées	Amibes lavées une fois	Amibes lavées deux fois
Citrate	0,7	0,65	0,4
Camphosulfonate	0,8	0,76	0,7
Gluconate	1,1	1	0,8
Chlorhydrate	1	1	1
Diéthylacétate	2,5	1,4	1,5
Phénylpropionate	4	4	3
Phénylbutyrate	9,5	7,6	4

Ces différences d'action ne s'expliquent pas par le pH qui est peu variable puisque nous trouvons en présence d'un milieu fortement tamponné.

2° A deux Infusoires ciliés, *Paramecium caudatum*-Ehrenberg et *Glaucoma scintillans*-Ehrenberg, qui ont été cultivés sur différents milieux.

Les essais ont été effectués avec des sels d'émétine dissous dans l'eau distillée et dans le liquide de Ringer.

Les chiffres que nous donnons, obtenus à partir des courbes que nous avons pu tracer en portant en ordonnée les concentrations en émétine base et en abscisses les temps d'action en minutes, et qui obéissent à la même loi hyperbolique $c = a + \frac{b}{t}$ montrent que les résultats sont tout à fait comparables à ceux obtenus avec les Amibes.

a) *Paramecium caudatum* cultivé sur infusion de foin :

Expérimenté avec des sels d'émétine dissous en eau distillée		Expérimenté avec des sels d'émétine dissous en Ringer	
Citrate	= 0,3	Citrate	= 0,4
Camphosulfonate ...	= 1	Gluconate	= 0,8
Chlorhydrate	= 1	Camphosulfonate ...	= 0,9
Gluconate	= 1	Chlorhydrate	= 1
Diéthylacétate	= 1,6	Diéthylacétate	= 2
Phénylpropionate ...	= 2,7	Phénylpropionate ...	= 4
Phénylbutyrate	= 4	Phénylbutyrate	= 5

b) *Glaucoma scintillans* cultivé en eau commune :

Expérimenté avec des sels d'émétine dissous en eau distillée		Expérimenté avec des sels d'émétine dissous en Ringer	
Citrate	= 0,6	Citrate.....	= 0,6
Gluconate.....	= 0,7	Camphosulfonate ...	= 0,8
Camphosulfonate ...	= 0,9	Gluconate	= 0,9
Chlorhydrate	= 1	Chlorhydrate.....	= 1
Diéthylacétate.....	= 2,5	Diéthylacétate.....	= 4,5
Phénylpropionate ...	= 9	Phénylpropionate....	= 6
Phénylbutyrate.....	= 14	Phénylbutyrate	= 10

3^o A un phytoflagellé, *Euglena gracilis*-Klebs, afin de voir enfin si les différences d'action observées sur les Protozoaires se manifestaient sur la cellule végétale.

Cette cellule se montre beaucoup plus résistante à l'émétine que la cellule animale, à tel point que nous n'avons pas pu atteindre la concentration toxique avec les sels à acides défavorables (citrate, gluconate, camphosulfonate, chlorhydrate) par défaut de solubilité de ces sels.

Seuls, les sels à acides favorables (diéthylacétate, phénylpropionate, phénylbutyrate) nous ont permis de tracer des courbes de la forme hyperbolique habituelle et d'obtenir les valeurs relatives suivantes en prenant le diéthylacétate comme unité.

Euglena gracilis :

Expérimenté avec des sels d'émétine dissous en eau distillée		Expérimenté avec des sels d'émétine dissous en Ringer	
Diéthylacétate.....	= 1	Diéthylacétate	= 1
Phénylpropionate ...	= 3	Phénylpropionate.....	= 2
Phénylbutyrate	= 4	Phénylbutyrate	= 4

Quel que soit le Protiste expérimenté, le processus d'intoxication suit généralement une loi hyperbolique de

la forme $c = a + \frac{b}{t}$, équation dans laquelle c représente la concentration en base pour 100, t le temps en minutes, a et b des paramètres dont les valeurs varient pour chaque sel et pour chaque Protiste. Les temps calculés en appliquant cette formule sont, d'une façon générale assez voisins des temps trouvés, compte tenu des erreurs d'expérience.

Nous voyons donc, d'après ces résultats que l'émétine, comme les autres alcaloïdes, est influencée par l'acide qui la salifie.

Nous mettons en outre en évidence, le fait nouveau suivant, à savoir, que les différences d'action des sels se manifestent en présence de liquide de Ringer, c'est-à-dire en présence d'anions minéraux.

Vu : le Président de thèse,

J. RÉGNIER.

Vu : le Doyen,

A. DAMIENS.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Gilbert GIDEL.

BIBLIOGRAPHIE

A

1. ADAMI (E.). — Ricerche sperimentali comparative sul fenilpropionato e sul cloridrato di p.aminobenzoildiethyl amino-ethanol, specialmente in rapporto al loro potere anestetico. *Arch. ital. Sc. farm.*, 1938, 7, 29.
2. ALLAN (W.). — The effect of emetine on *Entamoeba histolytica* in Stool. *Journ. of Pharm. a. Exper. Ther.*, 1920, 16, 21.
3. ALLAN (W.). — The effect of emetinezed blood and serum from man and cat on pathogenic *Entamoeba* in Stool. *Amer. J. of Trop. Med.*, 1922, 2, 195-198.

B

4. BERETERVIDE (I. J.) et GRAU (C. A.). — Una nueva sal de emetina : el canfosulfonato de emetina. *La prensa med. Argentina*, 1935, 22, 671.
5. BISHOP (A.). — Experiments on the action of emetine in cultures of *Entamoeba coli*. *Parasitology*, 1929, 21, 481.
6. BOECK (W.) et DRBOHLAV (J.). — The cultivation of *Entamoeba histolytica*. *Amer. Journ. of Hyg.*, 1925, 5, 317.
7. BONNIN (H.) et ARETAS (R.). — « *Entamoeba dysenteriae* » et émétine *in vitro*. Essai d'émétine. Résistance provoquée. *Bull. Soc. Path. exotique*, 1938, 31, 829.
BONNIN (H.) et ARETAS (R.). — Résistance acquise des Amibes « *Entamoeba dysenteriae* » à l'émétine *in vitro*. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 130, 495.
8. BONNIN (H.) et ARETAS (R.). — Action sur *Entamoeba dysenteriae* en culture de diverses substances et du sérum d'Homme ayant reçu de l'émétine. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 132, 577.

9. BRINDLEY (W. H.) et PYMAN (F. L.). — The alkaloids of Ipecacuanha. *Journ. Chem. Soc. London*, 1927, 130, 1067.
10. BRUMPT (E.). — Infection expérimentale du Chat par Entamoeba coli-Loesch, 1875. Schaudinn Emendavit, 1903. *Ann. de Paras.*, 1926, 4, 279.
11. BRUMPT (E.). — Une dysenterie amibienne expérimentale fatale pour les Vipères pourrait probablement être utilisée pour la destruction de ces Reptiles. *C. R. Ac. Sc.*, 1939, 209, 362.

C

12. CARR (F. H.) et PYMAN (F. L.). — The alkaloids of Ipecacuanha. *Journ. Chem. Soc. London*, 1914, 105, 1591.

D

13. DALE (H. H.) et DOBELL (C.). — Experiments on the therapeutics of Amoebic dysentery. *Journ. of Pharm. a. exp. Ther.*, 1917, 10, 399.
14. DESCHIENS (R.). — Recherches sur la culture d'Entamoeba dysenteriae. Modification du milieu et de la technique de Boeck-Drbohlav. *C. R. Soc. Biol.*, 1926, 96, 1356 ; pH, évolution chimique, simplification. *C. R. Soc. Biol.*, 1929, 101, 665.

DESCHIENS (R.). — Culture d'Entamoeba dysenteriae sur un milieu à base de gélose de Musgrave. *C. R. Soc. Biol.*, 1930, 103, 226.

15. DOBELL (C.) et BISHOP (A.). — Researches on the intestinal protozoa of Monkeys and Man. III. The action of emetine on natural amoebic infections in Macaques. *Parasitology*, 1929, 21, 446.
16. DOBELL (C.) et LAIDLAW (P. P.). — The action of Ipecacuanha alkaloids on Entamoeba histolytica and some entozoic amoeba in culture. *Parasitology*, 1926, 18, 206.
17. DOPTER (Ch.) et DESCHIENS (R.). — Action comparée du sérum humain et du sérum de Cheval sur les cultures de l'amibe dysentérique. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, 119, 1370.

E

18. ESCOMEL (E.). — Vingt-cinq cas d'abcès hépatiques amibiens guéris par l'émétine sans intervention chirurgicale. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1922, 15, 537.

F

19. GILLET (A. J.). — Action pharmacodynamique variable des sels d'alcaloïdes suivant la nature de l'acide salifiant : application aux anesthésiques locaux et à la morphine. *Thèse Doct. Pharm.* Paris, 1941.

G

20. GRAU (C. A.). — Un nouveau sel d'émétine : le camphosulfonate d'émétine. *Bull. Sc. Pharm.*, 19, 42, 452.
21. GROS (O.). — Ueber Narkotika und Lokalanaesthetika. *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1910, 62, 958 ; 1910, 63, 80 ; 1912, 66, 126 ; 1912, 67, 132.
22. GUGLIELMETTI (J.) et ARRILIAGA (F.). — Action du chlorhydrate d'émétine sur le cœur. *C. R. Soc. Biol.*, 1921, 85, 596.

H

23. HOFMEISTER (F.). — Lehre von der Wirkung der Salze. *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1891, 28, 210.

J

24. JANCZO (N. V.). — Beobachtung chemotherapeutischer Vorgänge im fluorescenz mikroskop. *Klin. Woch.*, 1932, 1, 681.
25. JONH (J. H. St.). — The effect of emetine on *Entamoeba histolytica* in culture. *Amer. Journ. of Hyg.*, 1933, 18, 414.

K

26. KOLMER (A. J.) et SMITH (A. J.). — The bactericidal and protozoocidal activity of emetin hydrochlorid *in vitro*. *Journ. of Inf. Dis.*, 1916, 18, 246 et 266.
27. KUENEN (W. A.) et SWELLENGREBEL (N. H.). — Die Entamöben des Menschen und ihre praktische Bedeutung. *Centralbl. f. Bakt.*, 1913, 71, 318.

L

28. LAIDLAW (P. P.), DOBELL (C.) et BISHOP (A.). — Further experiments on the action of emetine in culture of *Entamoeba histolytica*. *Parasitology*, 1928, 20, 207.

29. LEBEAU (P.) et COURTOIS (G.). — Traité de Pharmacie chimique, 1938, 2, 1511.
30. LEFÈVRE (M.). — Recherches sur la biologie et la systématique de quelques Algues obtenues en cultures. *Revue algologique*, 1932, 6, 313.
- LEFÈVRE (M.). — Techniques des cultures cloniques de Desmidiées. *Ann. Sc. Nat. Botanique*, 1937, 19, 325.
31. LWOFF (A.). — Recherches biochimiques sur la nutrition des Protozoaires. Le pouvoir de synthèse. *Thèse Doct. ès Sc.* Paris, 1932.
32. LYONS (R.). — Observations on the effect of Ipeca, phenol and salicylic acid on amebae *in vitro*. *New Orleans Med. a. Surg. J.*, 1912, 64, 881.

M

33. MOREA (L.). — Influence de la concentration en ion H^+ sur la culture de quelques infusoires. *C. R. Soc. Biol.*, 1927, 97, 49.

P

34. PYMAN (F. L.) et WENYON (C. M.). — The action of certain emetin derivatives on amoeba. *Journ. of Pharm. a. exp. Ther.*, 1917, 10, 237.

Q

35. QUEVAUVILLER (A.). — Sur quelques propriétés pharmacodynamiques et physicochimiques des sels de quinine. Influence de l'acide. *Thèse Doct. ès Sciences*, Paris, 1943.

R

36. RATCLIFFE (H. L.) et GEIMAN (Q. M.). — Amebiasis in Reptiles. *Science*, 1934, 324.
37. RÉGNIER (J.). — Mesure de l'anesthésie produite sur les terminaisons nerveuses de la cornée par les anesthésiques locaux. Comparaison des pouvoirs anesthésiques de la cocaïne, de la novocaïne et de la stovaïne. *C. R. Acad. Sc.*, 1923, 177, 558, et *B. S. P.*, 1923, 30, 580.
38. RÉGNIER (J.) et DAVID (R.). — Sur le maintien de l'activité physiologique des solutions de chlorhydrate de cocaïne. *B. S. P.*, 1934, 41, 321.

39. RÉGNIER (J.) et DAVID (R.). — Influence de l'anion combiné à la base cocaïne sur l'activité anesthésique de cet alcaloïde. *C. R. Acad. Sc.*, 1935, 200, 1428.
40. RÉGNIER (J.), DAVID (R.) et BAZIN (S.). — Influence de l'acide combiné à la cocaïne sur l'action exercée par cet alcaloïde sur les feuilles d'*Elodea canadensis*. Quelques remarques à propos des « actions toxiques potentielles ». *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 131, 229.
41. RÉGNIER (J.), DAVID (R.) et SITRI (R.). — De l'influence de l'acide combiné au paraaminobenzoyldiéthylamino-éthanol sur l'action exercée par cette base sur *Gasterosteus aculeatus* (Epinoche). *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 131, 726.
42. RÉGNIER (J.), DELANGE (R.) et DAVID (R.). — De l'influence de l'acide combiné à la base sur le pouvoir anesthésique de différents sels de paraaminobenzoyldiéthylamino-éthanol. *C. R. Acad. Sc.*, 1936, 202, 591.
- RÉGNIER (J.), DELANGE (R.) et DAVID (R.). — Des propriétés anesthésiques de nouveaux sels de paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol. Utilisation clinique du phénylpropionate et de l'isobutyrate. *Anesth. et Analg.*, 1936, 2, 267.
43. RÉGNIER (J.) et LAMBIN (S.). — De l'influence exercée par différents sels de morphine injectés en solution intraveineuse au Lapin sur la dépression du réflexe oculo-palpébral. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, 127, 113.
44. RÉGNIER (J.) et LAMBIN (S.). — De l'influence de l'acide combiné à la morphine sur la rapidité et l'ampleur de l'élimination urinaire de cet alcaloïde. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, 127, 294.
45. RÉGNIER (J.) et QUEVAUVILLER (A.). — Comparaison de l'activité anesthésique sur le nerf moteur de *Rana esculenta*, de deux sels de paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol, chlorhydrate et phénylpropionate. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, 122, 251.
- RÉGNIER (J.) et QUEVAUVILLER (A.). — Des actions exercées sur le nerf en milieu privé d'électrolytes, par le citrate de la base novocaïne et le citrate de morphine. Comportement qualitatif différent selon les concentrations. *C. R. Acad. Sc.*, 1937, 205, 251.
46. RÉGNIER (J.) et QUEVAUVILLER (A.). — Action de divers sels de paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol sur les filaments mycéliens de l'*Ascoïdea rubescens* (Brefeld). *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 131, 68.

47. RÉGNIER (J.) et QUEVAUVILLER (A.). — De l'influence de la nature de l'acide sur l'action qu'exercent sur le nerf moteur, différents sels de la base novocaïne et de morphine : comportement qualitatif différent suivant les concentrations. *C. R. Acad. Sc.*, 1937, 205, 251.
48. RÉGNIER (J.) et QUEVAUVILLER (A.). — L'action mydriatique de l'atropine sur l'œil énucléé de Grenouille varie avec l'acide qui salifie cette base. Comparaison de l'action exercée par le sulfate, le phénylpropionate et le citrate d'atropine. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 130, 1461.
49. RODHAIN (J.). — *Entamoeba invadens* n. Sp., Parasite des Serpents. *C. R. Soc. Biol.*, 1934, 117, 1195.
50. RODHAIN (J.) et VAN HOOF (M. Th.). — Essai de traitement de l'amibiase des Serpents. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, 120, 523.
51. RODHAIN (J.) et VAN HOOF (M. Th.). — Sur le rôle pathogène d'*Entamoeba invadens*. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, 118, 1646.
52. RODHAIN (J.) et VAN HOOF (M. Th.). — Sur le pouvoir hématophage d'*Entamoeba invadens*. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, 123, 138.
53. ROGERS (L.). — The cure rapid of amoebic dysentery and hepatitis by hypodermic injection of soluble salt of emetin. *British Med. Journ.*, 1912, 2686, 1424.
54. ROGERS (L.). — The emetine and other treatment of amoebic dysentery and hepatitis including liver abscess. *Indian Med. Gazette*, 1914, 49, 85.
55. ROLLÉ (R.). — Contribution à l'étude de l'action du sulfate de quinine sur *Amoeba dubia*. Thèse Doct. Pharm., 1939, Paris.

T

56. TANABE (M.) et CHIBA (E.). — A new culture medium for *Entamoeba histolytica*. *Acta med. in Reijo*, 1928, 11, 221.
57. TRAUBE (J.) et ONODERA. — Ueber den Kolloidzustand von Alkaloiden Beziehungen zwischen Oberflächenspannung Teilchengrösse und Giftigkeit. *Internat. Ztschr. Physik. Chem. biol.*, 1914, 1, 35.

V

58. VALETTE (G.). — Etude de la fixation de la quinine sur les Paramécies au moyen de l'examen microscopique de la fluorescence. *C. R. Acad. Sc.*, 1935, 201, 681.

59. VALETTE (G.) et ROLLÉ (R.). — Etude de l'action de la quinine sur les Amibes. Pénétration cellulaire et toxicité. *C. R. Acad. Sc.*, 1938, 207, 1071.

W

60. WALTERS (A. L.) et KOCK (E. W.). — Pharmacological studies of ipecac alkaloids and some synthetic derivatives of cephoeline. I. Studies on toxicity. *Journ. of Pharm. a. exper. Ther.*, 1917, 10, 73.
- WALTERS (A. L.), ECKLER (C. R.) et HOCK (E. W.). — II. Studies on emetic effect and irritant action. *Journ. of Pharm. a. exp. Ther.*, 1917, 10, 185.
- WALTERS (A. L.), BAKER (W. F.) et KOCH (E. W.). — III. Studies on protozoocidae and bactericidal action. *Journ. of Pharm. a. exp. Ther.*, 1917, 10, 341.
61. WEDDER (E. B.). — Origin and present status of the emetin treatment of amoebic dysentery. *Journ. A. M. A.*, 1914, 62, 501.
62. WHERRY (W. B.). — The amebacidal action of emetin. *Journ. of Inf. Dis.*, 1912, 10, 162.

Y

63. YMAZ (I.) et PASTOR (M. F.). — El Sulfocanfonato de emetina, Su estudio experimental. *Rev. Assoc. Med. Argentina*, 1935, 49, 99.

Z

64. ZUMSTEIN (H.). — Zur Morphologie und Physiologie der *Euglena gracilis*-Klebs. Thèse Leipzig, 1899.
65. ZUNZ (E.). — Pharmacodynamie spéciale, 1932, 2, 1143.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION.....	7
PLAN	16

CHAPITRE PREMIER

Action pharmacodynamique de l'émétine, son indication majeure : l'amibiase. Exposé des recherches qui intéressent plus particulièrement l'action sur les Protistes.....	19
L'émétine : ses propriétés pharmacodynamiques.....	19
Bibliographie	25
1° <i>Mode d'action de l'émétine dans l'amibiase</i>	25
a) Action sur le Parasite.....	25
b) Action sur le porteur.....	28
2° <i>Action toxique de l'émétine sur les Protozoaires</i>	31
3° <i>Existe-t-il une accoutumance à l'émétine ?</i>	35
4° <i>Action du sérum d'Homme émétinisé sur le développement d'une culture d'Amibe dysentérique</i>	36

CHAPITRE II

Formes d'utilisation de l'émétine. Les nouveaux sels. Leur préparation.....	39
Formes d'utilisation.....	39
Préparation des nouveaux sels.....	42

CHAPITRE III

<i>Action des sels d'émétine sur une Amibe : Entamoeba invadens-Rodhain</i>	49
Description et culture.....	49
Action du pH	55
Comportement des Amibes vis-à-vis de l'émétine.....	57

Variation de la toxicité du chlorhydrate d'émétine avec le pH	58
Variation de la toxicité du chlorhydrate d'émétine avec la température.....	59
Influence de l'acide qui salifie l'émétine.....	60

CHAPITRE IV

Action des sels d'Emétine sur des Infusoires ciliés :

<i>Paramecium caudatum-Ehrenberg</i> <i>Glaucoma scintillans-Ehrenberg</i>	72
1° Essais sur <i>Paramecium caudatum-Ehrenberg</i>	72
Isolement et culture.....	72
Identification par coloration.....	73
Action du pH.....	76
Comportement vis-à-vis de l'émétine.....	76
Variation de la toxicité du chlorhydrate d'émétine avec le pH et la température.....	77
Influence de l'acide qui salifie l'émétine.....	78
2° Essais sur <i>Glaucoma scintillans-Ehrenberg</i>	86
Isolement et culture.....	86
Identification.....	86
Action du pH.....	88
Comportement vis-à-vis de l'émétine.....	88
Toxicité du chlorhydrate d'émétine en fonction du pH et de la température.....	88
Influence de l'acide qui salifie l'émétine.....	89

CHAPITRE V

<i>Euglena gracilis-Klebs</i>	99
Culture	99
Description après coloration.....	100
Action du pH	102
Comportement des Euglènes traitées par l'émétine.....	103
Influence de l'acide sur la toxicité de l'émétine base....	104
CONCLUSIONS	109

883. — Imprimerie Jouve et Cie, 15, rue Racine, Paris (N° 31.0939). — 5-1943
